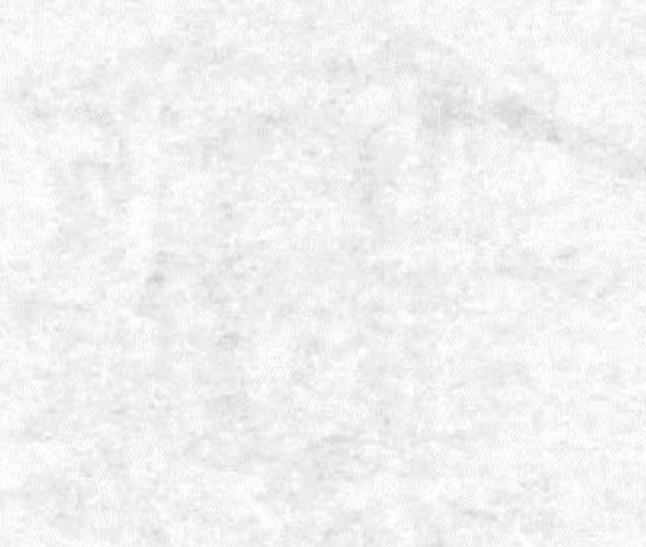
MANUALI HOEPLI

LXXXVI.

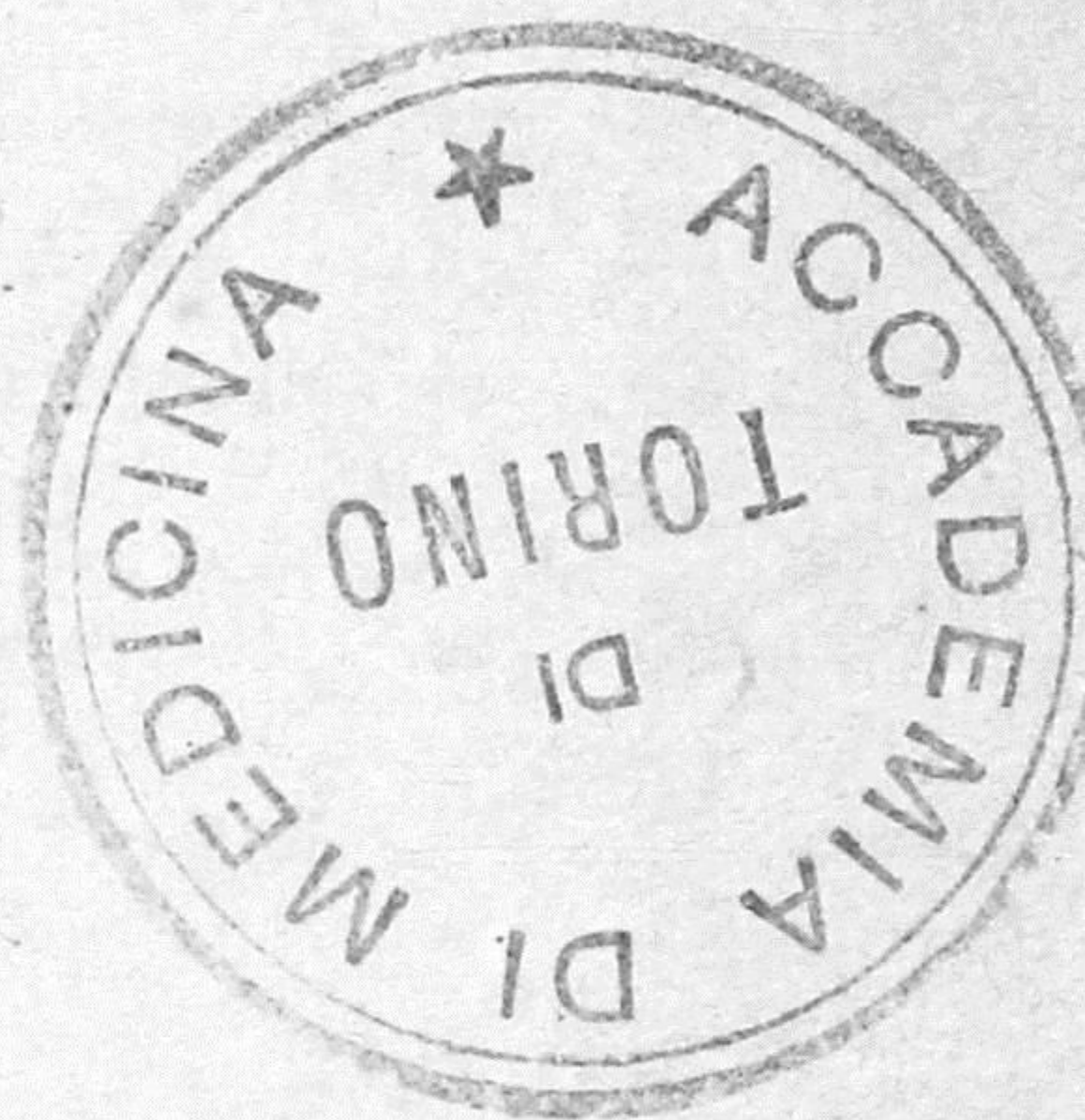
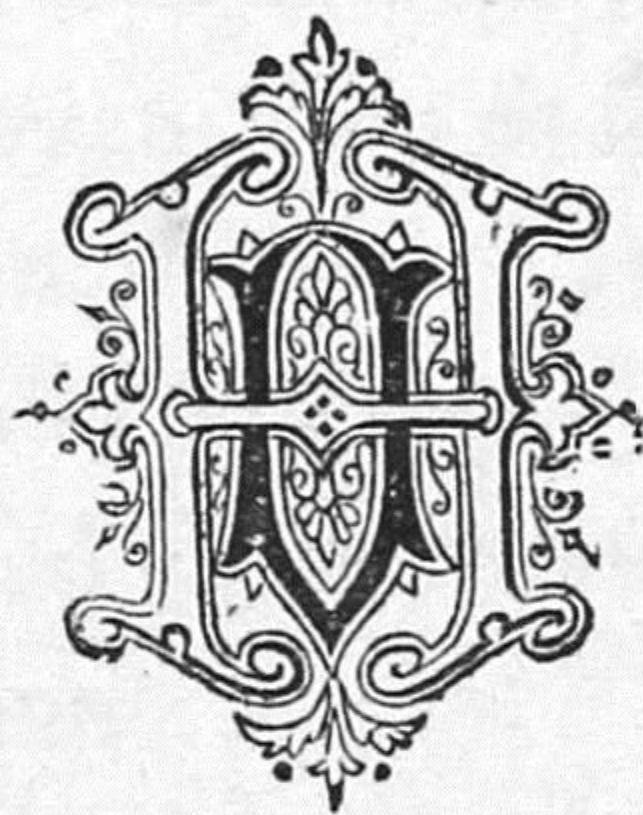
BATTERIOLOGIA

G. CANESTRINI

MANUALI HOEPLI

BATTERIOLOGIA

PER

G. E R. CANESTRINI.

CON 29 INCISIONI.

ULRICO HOEPLI
EDITORE-LIBRAIO DELLA REAL CASA
MILANO
1890.

INDICE

PREFAZIONE . . . . Pag. v

Parte Generale.

I. I microbi; loro forma e movimenti . . Pag. 1
II. Modo di riproduzione dei microbi . . » 6
III. Colore dei microbi . . . . » 12
IV. Importanza dei microbi . . . . . . » 15
V. Vie per le quali può entrare l'infezione » 21
VI. Predisposizione alle malattie infettive . » 23
VII. Vantaggi delle cognizioni di batteriologia » 33
VIII. Come si possano evitare i microbi . . » 46
IX. Classificazione dei microbi . . . . . » 59
X. Il microscopio ed il microtomo . . . » 67
XI. La sterilizzazione . . . . » 72
XII. Termostati e termoregolatori . . . . » 92
XIII. Sostanze di nutrizione e loro preparazione . . . . » 97
XIV. Coltivazione dei microbi . . . . . . » 108
XV. Sostanze coloranti . . . . » 122
XVI. Colorazione semplice dei microbi. . . » 126
XVII. Colorazione doppia dei microbi . . . » 137

XVIII. Metodi speciali di colorazione . . . . Pag. 141
XIX. Autopsia degli animali ed esperimenti d'innesto . . . . „ 148
XX. Esame dell'acqua, dell'aria e del terreno „ 153

Parte Speciale . . . . „ 167

Bacillo colerigeno . . . . „ 193
Bacillo del tifo addominale. . . . . „ 202
„ della morva . . . . „ 206
„ della difterite . . . . „ 209
„ del tetano . . . . „ 210
„ della setticemia dei topi . . . . . . „ 212
„ del mal rosso dei suini . . . . . . „ 213
Cocco-batteride del colera dei polli . . . . „ 214
Cocchi della pneumonite. . . . . „ 218
Streptococco dell'eresipela . . . . „ 221
Micrococchi piogeni . . . . „ 223
Malaria . . . . „ 225
Rabbia canina . . . . „ 230

Opere più importanti da consultarsi . . . . „ 239

PREFAZIONE

Il Manuale, che presentiamo al pubblico, ha lo scopo di riunire in breve spazio i risultati degli studi batteriologici fatti in questi ultimi tempi, affinchè possano giovarsene gli allievi naturalisti, i medici, i veterinarii e tutti coloro che si occupano di pubblica igiene. Tale lavoro, mentre per l'indole sua è in buona parte il frutto di una coscienziosa compilazione, in altre parti riferisce quanto noi stessi abbiamo osservato e sperimentato nel Laboratorio batteriologico della nostra Università, il quale, sebbene di recente istituzione, possiede tuttavia i mezzi necessarii tanto a scopo didattico che per ricerche originali. La batteriologia è una scienza bambina, cui arride uno splendido avvenire; essa cresce e si sviluppa rapidamente, ed il nostro obbiettivo non poteva essere che quello di abbozzare lo stato presente colla maggior possibile precisione, e di invogliare gli studiosi alla lettura delle opere più estese che trattano di questa disciplina.

Esprimiamo la nostra gratitudine alla Casa Martin Wallach Nachfolger di Cassel, che con somma cortesia ci ha fornito gli stereotipi delle figure che sono intercalate nel testo; e all'Editore comm. Ulrico Hoepli che nulla ha trascurato, perchè il manualetto riescisse nitido ed elegante, e ci ha permesso di sorpassare i limiti consueti di queste pubblicazioni.

Padova, 1 agosto 1889.

Gli Autori.

PARTE GENERALE

I.

I microbi; loro forma e movimenti.

La batteriologia è una bambina perchè nata in questi ultimi tempi, scrive il Fraenkel nella sua recente opera sui microbi,[1] e l'autore tedesco usa invero una frase esatta. Come scienza la batteriologia non conta vent'anni: prima si conoscevano delle forme di microbi, ma esse non erano studiate sotto i punti di vista della biologia e dell'igiene come lo sono al presente.

Dal 1880 a questa parte, a merito specialmente del Koch e della sua scuola, i lavori che trattano di questo argomento aumentano di giorno in giorno in modo prodigioso, tanto che, mentre compendiamo questo piccolo Manuale, piovono da ogni parte pubblicazioni grandi e piccole, trattati d'indole generale e speciale, monografie, sunti e resoconti, che costituiscono una letteratura ormai vasta e non sempre di facile accesso.

---

[1] Fraenkel C. *Grundriss der Bakterienkunde.* Zweite Auflage. Berlin, 1887.

Non si creda che questo piccolo volume sia un trattato di batteriologia; esso non presenta che uno sguardo generale, un riassunto breve delle odierne cognizioni sugli esseri che costituiscono questo nuovo ramo delle scienze biologiche, che è fecondo di tante scoperte.

Gli organismi che noi qui studiamo, come vedremo in appresso, sono di una semplicità straordinaria e costituiscono il ponte di passaggio fra gli animali e le piante. Gli autori che li studiarono pei primi hanno dato ad essi nomi diversi. Così Ehrenberg li chiamò *vibrionidi;* Davaine, *bacteridi;* Béchamp, *microzimi;* Nägeli, *schizomiceti;* Haeckel, *tachimoneri;* Cohn e Koch, *batteri;* Sedillot, *microbi.* Sarebbe ora intempestivo il discutere quale di questi nomi sia da preferirsi; in questo genere di studi vi sono al momento questioni ben più importanti da trattare. Diremo tuttavia che la parola microbio, specialmente dall'epoca dell'ultima invasione del colera in Italia, si è resa tanto popolare che tutti la conoscono e per questo, almeno provvisoriamente, è da adottarsi a preferenza delle altre.

Microbio significa *piccolo essere vivente;* tale termine venne introdotto nella scienza nel 1878, quando all'Accademia di Francia si discuteva se questi organismi dovessero essere chiamati *microfiti* o piuttosto *microzoi.*

La batteriologia o microbiologia ha già a quest'ora guadagnato un'ampia diffusione, poichè le scoperte di Koch, di Pasteur e dei loro scolari sono note, almeno in quanto hanno attinenza coll'igiene, a tutte le persone colte di ogni classe

sociale. I medici poi ed i veterinarii se ne occupano con speciale interessamento, perchè dallo studio dei microbi traggono grande vantaggio nell'esercizio dell'arte loro.

I microbi costituiscono una falange straordinariamente ricca di esseri che quasi ovunque si trovano, e si riproducono con una rapidità sorprendente. Brodo di carne, latte, sangue, pane, patate, gelatine, frutta, e tante e tante altre sostanze organiche abbandonate all'aria prestamente diventano vivai di una o più forme di questi organismi. Il loro aspetto è assai variabile, poichè sono o bastoncini corti (*bacilli, batteri*) o sferette minutissime (*cocchi*), oppure sono foggiati a cavaturaccioli colle spire più o meno aperte (*spirilli, spirochete*). Si presentano quasi sempre di una piccolezza estrema. D'ordinario vedonsi costituiti di protoplasma omogeneo, soltanto in pochi casi si mostrano finamente granulosi. All'esterno sono circondati da una membrana avvolgente o cellulare, che si vede al microscopio sotto forma di una linea di demarcazione, o di contorno, sottilissima. Le sostanze che hanno la proprietà di contrarre il protoplasma colorandolo, senza esercitare alcuna azione sulla membrana, come la *soluzione alcoolica di iodio*, permettono di distinguerla assai bene, purchè si prendano dei microbi piuttosto grandi, p. es. il *bacillo megaterio*. Tale membrana talvolta è costituita di cellulosa e talvolta, secondo il Nencki, di una sostanza albuminoide speciale, alla quale egli dà il nome di *micoproteina*. Merita ancora menzione il fatto che talvolta questi microrganismi si tro-

vano ravvolti e come impigliati in una sostanza gelatinosa speciale, come ad un dipresso le uova delle rane, e formano allora quegli aggruppamenti che chiamansi *zooglee.* A tutto ciò devesi aggiungere, che in certi casi i microbi si trovano circondati da involucri caratteristici. Le capsule dei pneumococchi ne offrono un esempio. Secondo il Friedländer, esse sono composte di *mucina*, la quale è solubile nell'acqua e negli alcali ed insolubile negli acidi.

Molti degli organismi, di cui parliamo. sono immobili; altri si muovono con rapidità maggiore o minore. Talvolta i movimenti sono vivacissimi. L'osservazione deve essere fatta al microscopio ed in un liquido che non li uccide, come l'acqua distillata. Alcune forme conservano i loro movimenti, senza modificarli, anche in una soluzione colorata acquosa molto diluita; in questi casi si ha il vantaggio che gli organismi si tingono alquanto e quindi si vedono meglio. Chi è nuovo in questo genere di osservazioni, deve andar molto cauto prima di pronunciarsi sulla mobilità di una data forma, poichè in qualche caso non è difficile di confondere il movimento proprio del microbio con quello *browniano*, che hanno tutte le sostanze solide ridotte in polvere e sospese in un liquido. Chi desidera prendere conoscenza di quest'ultimo movimento, non ha che da mescolare in una goccia d'acqua una piccola quantità di carmino polverizzato finamente, e poi esaminare la miscela al microscopio; vedrà allora i granuli di sostanza colorante in preda a movimenti danzanti o browniani vivacissimi, i quali

sembrano spontanei, mentre invece sono affatto meccanici. D'altra parte, per farsi un concetto chiaro di un movimento proprio dei più spiccati, si esaminino, stemperati nell'acqua distillata, i bacilli delle patate; questi si vedono guizzare nel campo del microscopio in tutte le direzioni e con tanta velocità che sembrano pesciolini. I vibrioni del colera, preparati come nel caso precedente, hanno un movimento di rotazione intorno a sè stessi ed un altro di traslazione; in altre forme osserviamo movimenti diversi ancora.

Tutti questi movimenti hanno fatto pensare alla presenza di organi locomotori.

Alcuni autori hanno voluto riconoscere tali organi in quei filamenti ciliari, polari o laterali, che furono scoperti da Ehrenberg ed osservati successivamente dal Cohn, dal Koch, dal Van Thiegem, e da molti altri. Quanto sia difficile il vedere coteste ciglia, ognuno lo immagina facilmente quando pensa che assai di frequente il microbio stesso è di una piccolezza estrema, e che, all'osservazione diretta, esse sono in rapida vibrazione; si aggiunga che sono sempre in numero limitatissimo, da 1 a 6, e che il loro potere rifrangente è quasi nullo. Perchè la nostra retina possa giungere a percepirle è necessario ricorrere a speciali metodi di fissazione e di colorazione; la prima si ottiene cogli acidi osmico e cromico, la seconda con una soluzione acquosa concentrata di estratto di campeggio. La prova più evidente della loro presenza ci viene fornita dalla microfotografia, la quale le riproduce fedelmente.

Nelle zoospore di un gran numero di alghe e di altre crittogame troviamo pure delle ciglia che funzionano da organi del movimento, e le quali sono prolungamenti del corpo protoplasmatico; quando la cellula porta una membrana avvolgente, esse l'attraversano uscendo per fori speciali, e così sporgono all'esterno. Nei microbi, secondo gli studi di Van Thiegem, la cosa è diversa; le ciglia cioè non si presentano quali prolungamenti del protoplasma interno, ma invece sono dei sottilissimi filamenti che hanno origine dallo strato gelatinoso esterno.

II.

Modo di riproduzione dei microbi.

Intorno al modo di riprodursi dei microbi noi siamo abbastanza in chiaro, sebbene questi esseri appartengano ai più piccoli finora conosciuti. La teoria della generazione spontanea, tanto sostenuta in tempi andati da Lucrezio, Aristotile, Plinio, Buffon ed altri, ed ammessa perfino per organismi di complicata struttura, subì la prima scossa quando Harvey rese pubblica la celebre formula « *omne vivum ex vivo* ». Lazzaro Spallanzani e Needham ripresero successivamente la questione, il primo sostenendo la omogenia, il secondo la eterogenia, e così — sebbene con qualche intervallo di tempo — continuò la discussione su questo importante argomento fino

a questi ultimi tempi. Sono celebri in proposito gli studi ed i risultati ottenuti dal Pasteur, quando davanti all'Accademia di Francia sostenne la omogenia contro il Pouchet. Da questo momento, sebbene da noi sostenessero opposto parere il Maggi, il Balsamo Crivelli, il Cantoni, e fuori d'Italia qualche altro, la teoria della generazione spontanea si ebbe tale sconfitta che non potè più oltre sostenersi nel campo scientifico.

Si parlò bensì di batteri mobili nelle foglie della *Trianea bogotensis* e nei peli di qualche Labbiata; ma tali asserzioni erano fondate sopra errori di osservazione.

Allo stato attuale delle nostre cognizioni non possiamo ammettere la generazione spontanea, nè con essa la spontaneità delle malattie infettive. Ogni microbio proviene da un microbio preesistente « *omnis cellula ex cellula* ». Ogni malattia infettiva proviene da una invasione di microbi importati; non vi è carbonchio spontaneo, come spontanei non sono nè il tifo, nè il colera, nè le altre malattie dichiarate di natura parassitaria.

I microbi si riproducono per divisione o per sporificazione; in molti casi una medesima forma, in diverso stadio di sviluppo, si riproduce in un modo e nell'altro.

La riproduzione per divisione avviene quando il microbio si scinde lungo una o più direzioni. La più comune è lungo una direzione sola, e cioè la trasversale. In questo caso l'organismo, raggiunta una data lunghezza, incomincia a strozzarsi verso il mezzo, e quindi rapidamente nasce

la scissione; in tal guisa si hanno subito due individui, i quali o si staccano completamente l'uno dall' altro, o restano uniti per formare ciò che si dice un *diplococco*.

In alcuni casi la scissione avviene in modo che i singoli individui mano mano che si formano, anzichè staccarsi, rimangono uniti fra di loro, e costituiscono allora delle catene, talvolta lunghissime, come, ad esempio, nel carbonchio antracico. In generale le forme corte, cioè isolate ed a diplococco, predominano nelle colture giovanissime, di 12 o 24 ore; le lunghe, in colture vecchie. Chi vuol farsi un concetto esatto della riproduzione per scissione trasversale nei microbi prenda del materiale da una coltura adatta e giovane di poche ore, e stemperatolo nell' acqua distillata lo osservi al microscopio; seguendo allora coll'occhio un dato individuo, lo vedrà allungarsi, strozzarsi, dividersi. A questo intento si riesce meglio quando i microbi nel campo visivo sono in numero scarso.

La scissione lungo due direzioni osservasi nei generi *Crenothrix* e *Cladothrix*; in questo caso il microrganismo subisce una suddivisione trasversale, quindi una divisione longitudinale, in guisa ch'esso viene a scindersi in quattro porzioni, che sono altrettanti organismi indipendenti. La scissione lungo tre direzioni sembra la più rara di tutte; la *Sarcina* ce ne dà un esempio.

La rapidità di divisione dei microbi è straordinaria. Nei gabinetti di batteriologia possiamo persuaderci ogni giorno della verità di quest'asserto. Se prendiamo un tubo d' assaggio con-

tenente gelatina sterilizzata, e vi introduciamo pochi microbi di una data coltura, per es., di colera asiatico, in 10-12 ore, ad un grado di calore conveniente, si avrà una colonia ben visibile ad occhio nudo formata di centinaja di milioni di individui. Il processo di moltiplicazione non è peraltro sempre egualmente intenso, ma varia col variare delle specie e diminuisce coll'invecchiare del substrato nutritivo finchè si arresta del tutto, e non si rinnova che a condizioni mutate. Il Cohn ha calcolato che un microbio in 48 ore può avere 281 bilioni e 475 milioni di discendenti. Tale rapidità di riproduzione ci spiega, almeno in parte, il rapido decorso di molte malattie di natura infettiva.

La riproduzione per spore, che si riscontra nei bacilli, o sta da sè sola, oppure, ciò che è più frequente, fa seguito alla riproduzione per divisione. Di solito alla sporificazione precede un allungamento delle forme vegetative; quindi in queste appariscono dei corpicciuoli fortemente rifrangenti la luce, di forma rotonda, che sono appunto le spore. Nei bacilli allungati a filamento, coteste spore formano spesso delle coroncine, tanto sono numerose. Nei bacilli corti invece se ne osservano di solito poche, una, due, tre o quattro; quando è una sola, può trovarsi nel mezzo del bacillo ed allora questo talvolta si presenta fatto a fuso; oppure è messa ad una estremità ed in questo caso il bacillo assume spesso la forma di un battaglio di campana. Chi desidera vedere spore nell'interno di lunghi filamenti, coltivi il carbonchio antracico nel brodo

sterilizzato e ad una temperatura di 37° circa. Dopo 24 ore faccia un preparato da questa coltura, e colorati i filamenti con uno dei soliti metodi, vedrà nell'interno di essi le spore, che si presentano incolore, piccole, rifrangenti la luce, e con l'aspetto quasi di goccioline di grasso. Se la medesima forma invece di coltivarla in brodo, la si coltiva sulle patate, ben inteso cotte e sterilizzate, nello stesso periodo di tempo produce pure spore, ma essa non si trova allo stadio di filamento, bensì di bacillo. È naturale che le spore variano di grandezza nei diversi microbi; talvolta, quando sono contenute in forme assai piccole, è difficilissimo di stabilire la loro presenza. Chi non ha pratica in questo genere di osservazioni, riesce con fatica a distinguerle bene nell'interno dei bacilli della tubercolosi e della lebbra.

Le spore sono destinate alla conservazione della specie, cui la forma vegetativa che le produsse appartiene. Esse hanno una membrana avvolgente molto compatta, per cui sono dotate di grandissima resistenza sia contro l'azione degli agenti chimici che atmosferici. Di quali sostanze si componga il loro contenuto, non è cosa ben nota; ma siccome questo si colora in nero coll'acido osmico, si suppone che alla sua formazione prendano parte delle sostanze grasse. Messe in condizioni opportune di nutrizione e di temperatura, le spore producono la forma da cui derivano.

La formazione di spore nell'interno delle forme vegetative è legata a condizioni speciali e non sempre conosciute. L'umidità e il calore hanno

certo grande influenza, come pure ne ha il substrato di nutrizione. Per le forme patogene, ed anche per molte altre, una temperatura di 37° è quella che più si presta alla rapida formazione delle spore.

Il De Bary distingue due categorie di spore: *endospore*, che sono quelle di cui abbiamo finora parlato, ed *artrospore*, che sono porzioni isolate delle cellule vegetative, e le quali possono direttamente, ossia senza formazione endogena, acquistare la proprietà di spore, cioè dar origine ad una nuova generazione di forme vegetative.

Dopo che le endospore si sono formate, il microrganismo che le contiene si sfascia, ed esse rimangono in libertà.

Nello studio delle forme patogene è assai importante di sapere, se esse si riproducano per spore o meno. I microbi che non sporificano, facilmente si uccidono in diversi modi; mentre quelli sporificanti, o meglio le spore stesse, resistono a molte sostanze disinfettanti. Per prendere qui in considerazione soltanto l'azione del calore, possiamo dire che i 50° C. sono sufficienti per uccidere le forme vegetative, purchè agiscano sopra di esse per un po' di tempo; [1] mentre spesso non bastano i 100° C. per togliere la vitalità alle spore. I Tedeschi giustamente chiamano queste ultime germi duraturi o *Dauersporen*.

---

[1] Affatto recentemente Miquel ha descritto un bacillo che ha il suo grado migliore di sviluppo fra i 60° e 70° C. Tale *bacillo termofilo*, se la cosa è bene constatata, presenta una vera eccezione.

III.

Colore dei microbi.

Generalmente i microbi sono incolori, ragione per cui si vedono con difficoltà all'osservazione microscopica diretta.

Parecchi però, e di solito innocui, si presentano colorati, e le loro tinte sono talvolta assai vivaci; sono questi che costituiscono il gruppo dei *cromogeni*. Un modo pronto e sicuro per farsi un concetto di alcune forme cromogene consiste nel prendere una superficie abbastanza vasta, per es. di un decimetro quadrato, di gelatina peptonizzata o di agar-agar, e di abbandonarla all'aria, in strato un po' grosso, in una sala qualunque a 20 e più gradi per 24-48 ore. In capo a questo tempo si vedranno su tale piastra numerosissime colonie di microbi, derivanti da germi caduti dall'aria, e fra esse molte ve ne saranno tinte in giallo, in rosso, in verde, ecc., che sono appunto formate da microbi cromogeni. Questi si sviluppano anche sopra altre sostanze, purchè si lascino all'aria per qualche tempo, così sul pane, sulle patate, sulla polenta. Molti fenomeni che colpirono l'immaginazione delle popolazioni ignoranti e superstiziose sono dovuti alla presenza di microbi colorati. A questo proposito conviene ricordare il fatto assai frequente, descritto sotto il nome di *macchie di sangue*, dovuto al *Micrococcus prodigiosus* (Monas prodi-

giosa Ehrenb.), che sviluppatosi sopra patate, pane, riso, ostie, e in breve tempo avendo reso di colore rosso di sangue tutta la superficie di queste sostanze, diede origine alle superstizioni le più strane. Si racconta che nel 1819 nel Padovano polenta di frumentone, pani di frumento, minestre di riso, si videro in brevi ore macchiarsi alla superficie intensamente di rosso. Il dottor Vincenzo Sette, incaricato di studiare il fenomeno, mentre il popolo gridava al miracolo, scoperse il microbio in discorso, che è poi quello stesso che i bachicultori rinvengono sovente sopra i bachi morti di calcino.

Per accennare a qualche altra forma cromogena ricorderemo ancora il *Micrococcus aurantiacus* (giallo-arancio) il *M. chlorinus* (verde erba), il *M. cyaneus* (azzurro), il *M. fulvus* (colore di ruggine), il *Bacillus cyanogenus*, che colora il latte in azzurro, il *B. synxanthus*, che colora il latte in giallo, il *B. ruber* che tinge l'acqua in rosso, il *B. luteus* dell'aria, che spesso si sviluppa sulle piastre di gelatina; i *B. cœruleus* e *violaceus* delle acque; il *B. fluorescens* delle putrefazioni, il *Bacterium pyocyaneum*, ecc.

La sede del pigmento che colora questi microbi non è ancora ben precisata. Alcuni autori la vorrebbero nel protoplasma; altri, come il Naegeli, nella membrana cellulare, e può darsi che in alcuni casi stia infatti nel primo, ed in altri nella seconda; altri ancora, come il Fraenkel, propugnano l'idea che la sede del pigmento sia da cercarsi nel substrato, nel quale vive il microbio ed in cui produrrebbe una modificazione chimica.

Degno di speciale menzione è il fatto, che talvolta le forme cromogene perdono il loro pigmento, o per meglio dire, non lo producono; il bacillo del latte azzurro, ad es., coltivato in soluzioni gommose, si sviluppa perfettamente incoloro. Per ragioni che noi ancora non conosciamo, questi microrganismi dunque producono il loro principio colorante soltanto in certi substrati nutritivi e non in altri. Fra le nostre colture noi ne possediamo di quelle che divennero cromogene col tempo, ed altre che essendolo state una volta ora non lo sono più.

Possediamo qualche forma cromogena che presenta, coltivata in agar-agar, una tinta diversa che in gelatina peptonizzata, e in questa ha un aspetto più vivace alla superficie che lungo il canale d'infissione.

È strano che la sostanza colorante di questi microbi, sia dal punto di vista chimico che spettroscopico, ha molta affinità coi colori d'anilina. Il rosso prodotto dal *Micrococcus prodigiosus* per es. sembra identico a quello della fucsina.

Un gruppo di microbi, che in seguito troverà posto accanto a quello dei cromogeni che ora abbiamo citato è quello dei *fosforescenti*, la cui proprietà caratteristica è di mandar luce nella oscurità. Fino al presente di questi se ne conoscono ancora troppo pochi e se ne tiene appena conto.

IV.

Importanza dei microbi.

Quanta parte abbiano i microbi nella natura sarà stabilito col tempo; constatiamo però fin da ora ch'essa deve essere grandissima, se badiamo ai fenomeni chimici e fisici che da essi dipendono. Questo mondo degli invisibili determina fermentazioni diverse: per *ossidazione*, per *sdoppiamento*, per *idratazione*, per *riduzione*; dà luogo a gaz diversi, a fermenti solubili, produce veleni, materie coloranti, luce, calore, acidi.

Il *Mycoderma aceti*, fermento acetico, o madre dell'aceto, che sotto forma di membrana copre la superficie dell'aceto, fa ossidare l'alcole e lo tramuta in acido acetico. Il *Micrococcus ureae* determina la fermentazione ammoniacale dell'urina, sdoppiando l'urea in ammoniaca ed acido carbonico. Il microbio del fermento lattico, *Bacillus lacticus* di Pasteur, tramuta il latte producendo acido lattico. Il *Bacillus amylobacter* ed il *B. butylicus* trasformano la cellulosa, l'amido, lo zucchero, le gomme, ecc., in acido butirrico ed altri prodotti. Altre forme sdoppiano il saccarosio in glucosio e levulosio. Altre ancora determinano la fermentazione putrida, processo d'idratazione che muta in peptoni ed in composti sempre più semplici gli albuminoidi, o sostanze azotate proteiche. E non si devono nemmeno dimenticare quelli che fanno ossidare le sostanze organiche dell'*humus* pro-

ducendo in tal guisa una continua e benefica nitrificazione del terreno. Molti di codesti microbi producendo fermentazioni diverse generano pure degli acidi, e qui fra i più comuni ricorderemo il lattico, il butirrico, l'acetico, il succinico ed il propionico. Alcuni avvelenano l'ambiente in cui si trovano, poichè danno luogo ad alcaloidi speciali, ptomaine, leucomaine, dannosissimi, e non ancora perfettamente conosciuti.[1] Un certo numero, trovandosi nel nostro apparato gastro-enterico, ha azione importante sulla digestione, e taluni pare sieno indispensabili per la germogliazione delle piante.

Molti hanno normalmente stanza in noi e sopra di noi, e ne troviamo nel sudore, sulla pelle, sui peli, nelle cavità nasali, negli occhi, in bocca, insomma dappertutto dove penetra l'aria. Antonio van Leeuwenhoek scopriva già nel 1683 nella patina dentaria, « esigui animaletti che si muovevano in modo giocondissimo, » e lo stesso autore aggiungeva con quello stile suo umoristico, che malgrado la sua nettezza personale erano più numerosi gli abitanti della sua bocca che quelli di tutte le provincie della Repubblica Olandese. Ciò non pertanto si fu solo dopo gli studi di Davaine, Roger, Pollender, Schevann, Cagnard de la Tour e di altri, che si diede importanza a questi esseri del mondo invisibile. Ed oggi gli occhi degli anatomo-patologi, dei naturalisti e dei chimici sono rivolti sopra questi microbi, pa-

---

[1] Chi vuol farsi un concetto di questi corpi legga i lavori di Selmi, Gautier, Brieger, Guareschi e di altri.

droni del mondo, fattori potenti delle trasformazioni le più complesse e le più svariate.

Fu il Pasteur, in modo speciale, che mise in evidenza questi esseri, per tanto tempo trascurati, quali produttori di fermentazioni, di epidemie, di infezioni; e subito la medicina e la chirurgia ne trassero un'applicazione larga e quasi inaspettata.

I microbi *patogeni* determinando malattie di natura infettiva hanno per noi un interesse speciale. Molti sono quelli che di continuo minano la nostra salute, senonchè fortunatamente noi presentiamo loro sovente una certa resistenza e li respingiamo. In altri casi essi ci assalgono, combattono, vincono la lotta e finiscono, o in breve tempo o lentamente, coll'ucciderci. Non dobbiamo credere che l'uomo sano si conservi tale, perchè non viene assalito dai microbi, tutti siamo soggetti alla lotta parassitaria; il mantenersi sani è questione di resistenza. È necessario conservarla se di già l'abbiamo; di procurarcela se ci manca. In quale maniera questi organismi invisibili esercitino la loro azione sul povero loro ospite, è solo in pochi casi conosciuto; per saperlo dobbiamo chiamare in soccorso la chimica, già tanto benemerita degli studi batteriologici, la quale probabilmente, e fra non molto, ci porterà molta luce. È una cosa che fa veramente sorpresa il vedere degli animali di grande statura e di straordinaria potenza di vita morire in breve tempo dopo che sono stati inoculati con una forma patogena; valga ad esempio il carbonchio antracico per i bovini ed il moccio per i solipedi.

Abbiamo detto più sopra, che microbi pato-

geni sono quelli che determinano malattie infettive. Ora è necessario di avvertire, che se per alcune forme la relazione fra microbio e morbo è dimostrata con la *prova decisiva* della riproduzione della malattia mediante inoculazioni di porzioni di colture nette negli animali, per altre tale relazione non è egualmente comprovata. Se da un animale morto di carbonchio o di moccio prendiamo del materiale colle regole della tecnica batteriologica, e facciamo delle colture in brodo o in gelatina, e quindi successivamente altre colture di trapianto da queste ultime, e finalmente, accertatici che altre forme non si sono soprapposte, inoculiamo, secondo i casi, dei bovini o dei solipedi, li vediamo morire in breve tempo presentando le caratteristiche della malattia; perciò dobbiamo necessariamente concludere che i microbi in discorso sono patogeni. Per questi e per altri è dimostrato in modo evidente che sono causa di morbo; ma ve ne sono altri, i quali colpiscono l'uomo soltanto, e per taluno di questi, sebbene prove plausibili li dinotino fattori di malattie, pure manca ancora sempre la *prova decisiva*, di cui sopra abbiamo parlato, e ciò per la ragione che certe esperienze non possiamo farle sopra individui della nostra specie. Quantunque vi siano dei microbi, la cui azione specifica non sia bene constatata, pure lo studio procede con tanto ardore che ciò che è incerto oggi, può divenire chiaro domani; e di continuo la scienza porta la scoperta che questa o quella malattia è dovuta all'azione di qualcuno di codesti microrganismi.

È stato sostenuto da più autori, che vi possono essere microbi nell'interno dell'organismo sano ed in regioni prive di qualsiasi comunicazione col mondo esterno; così nel fegato, nella milza, nei reni, nel pancreas, nel sangue, ecc.

Per quanto però quest'asserzione abbia trovato da principio un certo appoggio, oggi è generalmente respinta, e ciò in seguito alle accurate osservazioni di Pasteur, Clebs, Hansen, Leube ed altri, i quali propendono ad ammettere che se per caso penetrano in circolazione dei microbi attraverso a soluzioni di continuità od in altro modo, essi ben presto vengono eliminati o distrutti.

Gli studi di Metschnikoff sui leucociti del sangue (*veri fagociti*) avvalorano questa opinione, ed essi meritano di essere qui ricordati, tanto più che accennano ad una lotta per l'esistenza tutt'affatto nuova. L'autore studiando una malattia parassitaria delle dafnie, ha potuto osservare, che mano mano che le spore del fungo patogenico passavano nella cavità dell'animale, venivano prese e divorate dalle cellule incolori del sangue, e così perivano disfacendosi; ciò succedeva però quando esse penetravano nel piccolo crostaceo in numero limitato, mentre in caso diverso i corpuscoli non potevano assorbirle tutte, laonde esse si facevano preponderanti, ed il parassitismo vinceva la lotta uccidendo l'animale. Altra osservazione dello stesso autore è la seguente: Prese delle rane, animali il cui sangue è di temperatura variabile, che tenuti in un ambiente non riscaldato e inoculati col carbonchio an-

tracico non muoiono, e le infettò appunto col microbio in discorso; ebbene egli potè vedere, tenendole alla temperatura dell'ambiente, che i globuli bianchi del sangue assalivano e distruggevano i microrganismi in discorso. Se invece le rane erano tenute ad una temperatura di 37° dopo innestate, ammalavano e morivano; in questo caso i bacilli non si lasciavano più rinchiudere nei leucociti, ma nuotavano liberi nel sangue. Un altro fatto che si deve pure allo stesso Metschnikoff, e che non possiamo passare sotto silenzio, è quello che si riferisce all'innesto del carbonchio attenuato. L'autore ha potuto vedere che nel punto dove degli animali venivano innestati con virus carbonchioso attenuato, aumentavano sensibilmente in numero i leucociti divoratori di bacilli; e che di più in uno di tali animali successivamente inoculato con una coltura virulenta dello stesso microbio, i leucociti erano così numerosi che subito divorarono i microrganismi importati, di guisa che nessuno potè fuggire ai fagociti, e quindi nessuno nuotava libero nel plasma. Se questi fatti troveranno conferma, verranno a costituire in batteriologia una vera chiave di Volta per la spiegazione di un gran numero di fenomeni fisio-patologici di grande importanza. Oggi intanto la *teoria della fagocitosi (fagocitismo)* o *lotta delle cellule contro i microbi*, rappresentata appunto dalle cellule dell'organismo che digeriscono i microbi, è studiata attivamente in Italia e fuori trovando sostenitori ed avversari.

V.

Vie per le quali può entrare l'infezione.

Quando si pensa alla enorme diffusione che hanno questi microrganismi, è facile comprendere che noi ci troviamo sempre in un ambiente viziato, ossia popolato da un numero maggiore o minore di essi. Come entrino nel nostro organismo, non è sempre dimostrato; si suol dire che le porte principali sono la cute, e gli apparati digerente, respiratorio e genito-urinario.

Vi è chi ritiene che i microrganismi che producono infezione possano passare attraverso la pelle anche se non vi sono soluzioni di continuità. Comunque, è certamente assai facile che per ragioni diverse, piccole ferite, abrasioni, ulcerazioni, punture d'insetti, ecc., sulla superficie del nostro corpo si formino delle ampie porte d'entrata per questi esseri straordinariamente piccoli. In quanto all'apparecchio digerente dobbiamo dire che è certamente sempre invaso da legioni di microbi che introduciamo coi cibi e coll'acqua. Nel maggior numero dei casi essendo essi innocui non hanno alcuna azione e vengono espulsi quali corpi estranei, però altravolta essendo patogeni e trovando le condizioni volute per svilupparsi, invadono questo o quell'organo e incominciano quella lotta che pur troppo non di rado termina con la loro vittoria. L'epitelio ed il muco che coprono le mucose e l'acidità del succo gastrico sono cer-

tamente a tutta nostra difesa, ma la pratica c'insegna (infezione tifica e colerica) che non sempre bastano, e poi quante volte l'infezione non penetra traverso le mucose della bocca, delle labbra, del velo palatino, della retrobocca, ecc.? Che l'apparato respiratorio costituisca una via d'entrata e conseguentemente un centro di distribuzione dei microrganismi, è più facile supporlo che dimostrarlo. E ciò che è constatato per i bacilli della tubercolosi, lo sarà in seguito per chissà quali e quante altre forme. Intanto chi conosce l'estensione dell'apparecchio respiratorio, la sua facilità ad ammalare, la massa d'aria che in esso entra, troverà giustificato il sospetto che parecchie infezioni penetrino nell'organismo per questa via. Del resto gli studi recenti del Buchner fatti sopra delle cavie, che obbligò ad aspirare delle spore di carbonchio antracico in due modi, cioè con la polvere secca e con un polverizzatore speciale ad acqua, confermano l'idea della infezione per introduzione di germi nelle vie aeree. Gli animali sono morti dopo 48-72 ore.

L'autore dice che di 140 animali sottoposti all'inalazione danno il 68 $^0/_0$ di risultati positivi; e di 140, al cibo dei quali si era mescolata una quantità assai forte di germi, si ebbe l'8-9 $^0/_0$ di risultati positivi. Un'altra via per cui non di rado penetrano infezioni, e assai temibili, è quella dell'apparato genito-urinario; ciò che si comprende facilmente quando si pensa alle soluzioni di continuità ed alle abrasioni della mucosa. La cosa prende un aspetto diverso e più grave, se si ammette con molti, fra i quali milita il Perroncito,

che a mezzo della circolazione placentare un microrganismo possa, in determinati casi, passare dal sangue materno a quello del feto.

VI.

Predisposizione alle malattie infettive.

Tenendo sempre di vista i microbi patogeni, cioè quelli che determinano le malattie infettive, noi dobbiamo ora prendere in esame le diverse specie animali, ed i diversi individui di una specie medesima, poichè presentano resistenza diversa ad una stessa forma patogena per ragioni che ancora non conosciamo.

Certi esseri sono refrattari ad una data malattia parassitaria, altri invece vi sono assai predisposti. La spiegazione di ciò sarà data col tempo, ora constatiamo i fatti. Certo è che per far sì che una data forma patogena arrivata in un dato organismo si riproduca generando la malattia specifica, occorre quel certo numero di condizioni, che sono indispensabili, perchè la specie microbica vi possa prosperare. Per mettere in evidenza la diversa predisposizione alle differenti malattie infettive, veniamo a degli esempi. Il carbonchio antracico fa morire rapidamente i ruminanti ed i roditori, e non ha alcuna azione sulla volpe e sui cani, specialmente se sono vecchi. La setticemia dei topi ha azione virulenta sui sorci domestici, e risparmia completamente quelli campagnuoli.

Il carbonchio sintomatico fa morire le cavie ed è innocuo per i conigli. Il moccio è esiziale pei solipedi e roditori e non porta alcun effetto dannoso ai bovini.

Giustamente si dice che alla superficie della terra non si trovano due foglie perfettamente identiche fra di loro. Noi dobbiamo partire da questo principio applicandolo agli animali, per ispiegare il diverso grado di predisposizione di un determinato organismo per una data forma infettiva o la eventuale sua refrattarietà. È un fatto degno di osservazione che il bacillo della setticemia dei topi, come fu detto poc' anzi, fa morire i sorci casalinghi senza esercitare alcuna azione su quelli dei campi, ed è poi strano che lo stesso microbio agisca in modo virulento sul passero comune. È incomprensibile, come il bacillo in discorso non trovi le condizioni opportune per il suo sviluppo nel topo campagnuolo, e che poi d'altra parte le rinvenga in un animale tanto diverso dal suo ospite abituale, cioè in un uccello. Nelle varietà di una medesima specie vi può essere ricettività maggiore o minore per una determinata forma patogena. Per brevità ed a solo titolo di esempio prendiamo a considerare la specie umana. È noto da molto tempo che i Negri sono assai più predisposti dei Bianchi alla tubercolosi, ed è pure constatato d' altro canto che i primi scansano molto la febbre gialla, mentre i secondi vi vanno assai soggetti. A ciò aggiungasi che i Negri dell'Africa equatoriale vanno immuni dalla sifilide; e che gli Eschimesi dell'America settentrionale sono talmente predisposti al vaiuolo che

praticata ad essi una delle nostre vaccinazioni ordinarie, spesso muoiono di tale malattia. Oltre a queste predisposizioni ed altre simili ve ne sono di quelle che si rinvengono in famiglie intere legate da vincoli di sangue. Per citare un solo esempio, ricordiamo la tubercolosi; tutti sanno che questa malattia, quando assale una famiglia, suole perseguitarla di generazione in generazione facendo strage dei suoi membri, qualora una igiene rigorosa ed una buona dietetica non vi pongano riparo.

Condizioni speciali e del momento possono pure, e talvolta facilmente, predisporre alle infezioni. Le nostre puerpere non sarebbero ad ogni parto in tanto pericolo, se le levatrici conoscessero meglio l'antisettica, e ad ogni manipolazione si valessero dei disinfettanti necessari per impedire l'importazione nella paziente di microrganismi patogeni. Le levatrici hanno nelle loro mani la vita di tante donne giovani, di tante madri affettuose, di tante spose avvenenti, di tante direttrici di famiglia il più delle volte insostituibili, che dovrebbero essere obbligate a mettere in pratica gli insegnamenti dell'antisepsi.

Esse dovrebbero essere istruite innanzi tutto sul danno che possono recare alla puerpera con esplorazioni e manovre non necessarie; poi intorno ai vantaggi che apporta una rigorosa antisepsi. Gli istituti di maternità bene diretti hanno già dato degli insegnamenti preziosi a questo riguardo che torna utile di tenere presenti alla mente. Ai nostri giorni in essi la febbre puer-

perale si può dire è sconosciuta; il metodo antisettico di Lister applicato alle puerpere costituisce un vero trionfo. Se nelle case private si procedesse come negli istituti anzi detti, quante madri sarebbero salvate! [1]

---

[1] A questo punto ci piace di riportare dall'ottimo giornale la *Salute Pubblica*, diretta dal prof. Carlo Ruata alcune regole di antisepsi da seguirsi dalle levatrici e dalle assistenti le puerpere.

1.° Ogni puerpera deve avere nella sua camera due bottiglie; l'una contenente una soluzione di sublimato corrosivo all'1 per 1000; l'altra deve contenere una soluzione di acido fenico nell'olio della forza di una parte di acido fenico ed 8 di olio.

2.° Una piccola bacinella contenente della soluzione di sublimato corrosivo deve sempre rimanere accanto al letto della puerpera, e la levatrice o l'infermiera devono completamente sciaquarsene le mani ogni volta che esse toccano la paziente in prossimità delle parti genitali per lavare, o per qualunque altro scopo, sia prima, che durante il parto, ed anche per una settimana dopo il parto.

3.° Le spugne, i tubi da clistere per il retto o per la vagina, i catateri, ecc., devono essere immersi nella soluzione di sublimato prima di essere adoperati. Le pianelle, le scarpe, i vasi da notte, ecc., devono pure essere bagnati colla soluzione di sublimato.

4.° I tubi vaginali per clistere, i catateri, ecc., devono inoltre essere unti coll'olio fenicato prima di essere introdotti.

5.° Se non vengono date altre istruzioni, dal medico, la vagina deve essere ben lavata, mediante un tubo irrigatore, con acqua fatta prima bollire e lasciata poscia intiepidire.

6.° Qualunque lenzuolo, coperta, panno, ecc., insudiciato deve essere immediatamente portato fuori della camera da letto.

Vi sono inoltre alcune poche precauzioni da prendersi durante il parto, le quali sono di spettanza del medico stesso.

1.° Prima di fare qualsiasi esame, di usare una soluzione antisettica, egli deve nettarsi bene le mani con acqua e sapone, prestando speciale attenzione alle unghie, tanto so-

Chi ha lo stomaco che non funziona bene, chi non ha la voluta acidità gastrica, è certamente predisposto ad alcune malattie, così al colera, al tifo, alla tubercolosi intestinale; e vi sarà predisposto anche più se nel suo intestino albergano oppure avranno albergato di recente dei vermi parassiti. A questo proposito dobbiamo ancora aggiungere che non è infrequente che un individuo, dopo superata una infezione colerosa, venga colpito dal tifo. Ciò si spiega col fatto che una infezione predispone all'altra.

Una conformazione viziosa del torace, l'obbligo di posizioni incomode, non permettenti libero gioco ai polmoni, come pure il rimanere a lungo in mezzo alla polvere, a fumi irritativi, o in ambienti poco aerati, e così ancora le infiammazioni degli organi respiratori determinate da qualsiasi causa, sono tutte condizioni che predispongono alla tubercolosi.

---

pra che sotto, dove la materia settica può facilmente annidarsi.

2.° Nel primo periodo del parto la vagina deve essere completamente lavata con una soluzione antisettica mediante un irrigatore, e la vulva lavata con una spugna inzuppata della soluzione stessa.

3.° Quando il capo del bambino distende il perineo e le parti genitali esterne, la vagina deve nuovamente essere lavata colla soluzione antisettica.

4.° Non si deve adoperare il burro od altro grasso per ungere le dita; bisogna far uso dell'olio fenicato oppure di vasellina.

5.° Quando sia possibile, è bene far uso dei panni igienici, invece dei panni comuni per ricevere i lochi, poichè quelli possono essere bruciati, e così si evita il pericolo di adoperare panni imperfettamente puliti.

Da quanto si è detto, e da moltissime considerazioni e riflessioni che si potrebbero fare, risulta che il parassitismo se è vero che è *legge universale*, è vero anche che non è legge eguale per tutti, giacchè fa strage dei predisposti lasciando illesi gli altri, cioè quelli dotati di una refrattarietà, che può essere relativa od assoluta, o meglio temporanea o continua. In massima si può dire che quelli, i quali hanno gli apparecchi della digestione e della respirazione ben conformati e che funzionano bene, purchè vivano senza troppo scostarsi da una buona igiene, hanno grande probabilità di sottrarsi a molte malattie di natura infettiva. Sarebbe ridicolo il ritenere che contraggono tali malattie tutti quelli che inspirano dei microbi patogeni o che li introducono nell'apparato digestivo. Se così fosse, in epoca d'epidemia chi si salverebbe? E delle persone che vivono in centri popolosi, dove i microbi patogeni brulicano sempre sia nell'aria che nell'acqua, quanti sfuggirebbero a questa od a quella infezione? Noi dobbiamo ammettere che l'ambiente, meno forse rare eccezioni in località assai discoste dai centri popolati (come p. es. in alto mare e sulle cime dei monti), sia sempre pronto ad infettarci, ma compia l'opera sua soltanto quando il nostro organismo è predisposto all'infezione. Un bacillo della tubercolosi penetrato in un apparecchio respiratorio sano e bene conformato, viene espulso come ogni altro elemento estraneo; un bacillo del tifo o del colera entrato in uno stomaco che funziona fisiologicamente, viene ucciso e digerito; poichè l'acidità

del succo gastrico in questo caso ci salva. Si abbia dunque cura di conservarla, cioè si abbia cura di tenere lo stomaco in istato buono, non abusando di lui maltrattandolo come fanno tutti quelli che si dànno smodatamente ai piaceri del mangiare e più del bere: *Cibus, potus, Venus, omnia moderate.* La diminuita acidità di quest' organo per catarri gastrici, per l'uso del bicarbonato di soda, per un lungo digiuno o per altre ragioni, è causa predisponente a malattie di natura infettiva. Forse i cani ed altri carnivori sono refrattari a parecchie malattie parassitarie per l'abbondante loro acidità stomacale.

Ed ora dobbiamo ricordare un altro genere di predisposizione. Pare assodato che i nuovi arrivati in un luogo, dove infierisce una malattia infettiva, sieno molto più facilmente colpiti di quelli che vi si trovano in mezzo da tempo. Lentini, città di Sicilia molto soggetta alle febbri malariche, è chiamata la *tomba dei forestieri*, appunto perchè questi assai più degli indigeni vengono presi dal morbo. Si è notato ancora che quando sul finire di una epidemia colerica ritornano in paese i fuggiaschi, essi sembrano meglio predisposti all'infezione di quelle persone che non hanno abbandonato il luogo. Arloing, Cornevin e Thomas, asseriscono che i bovini, i quali abbiano oltrepassata l'età di 4 anni, non contraggono forse più il carbonchio sintomatico, purchè però tali animali sieno nati e cresciuti sempre nel luogo d'infezione. In questi ed in altri casi pare di dover ammettere che durante l'infierire dell'infezione avvenga una specie di vaccinazione benefica per

tutti quelli che non sono direttamente colpiti dal male. Come abbia luogo una tale vaccinazione preservatrice, se pure avviene, è assai difficile stabilirlo, forse a mezzo dell'aria o dei cibi, forse a mezzo degli insetti, e forse in altro modo ancora.

A tutto quanto abbiamo detto più sopra devesi ancora aggiungere che l'età ed il sesso hanno pur essi la loro parte nel determinare la predisposizione a malattie infettive. È noto, p. es., che il carbonchio antracico può far morire i cani giovani, mentre risparmia i vecchi; è noto pure che il carbonchio sintomatico colpisce i bovini fra i 6 mesi ed i 4 anni di età e che difficilmente ha azione letale su di loro prima o poi. L'esperimento ci dice che i bacilli della setticemia dei topi fanno morire i conigli giovani, mentre i vecchi risentono appena un'affezione locale.

Di più, tutti sappiamo dalla pratica, che vi sono infezioni che attaccano di preferenza i bambini, mentre altre colpiscono gli adulti. Da questo punto di vista forse ogni età ha i suoi pericoli per malattie diverse. Convien dire che il nostro organismo si cambi coll'età, come la stessa nostra fisonomia, che è un segnale esterno ed abbastanza grossolano, ce lo dice. I microbi, esseri delicatissimi, si accorgono assai facilmente dei mutamenti che nei nostri organi avvengono, e mentre oggi non possono in essi riprodursi, domani vi troveranno un ambiente opportuno; od eventualmente quell'ambiente che era per essi adattato ieri, non lo è più oggi, nè forse lo sarà mai, e allora se vogliono far delle vittime, devono rivolgere i loro strali altrove.

La stessa tubercolosi, benchè faccia delle vittime in ogni età, tuttavia si può considerarla più precipuamente la malattia dei giovani. Chi è arrivato sano ai 40 anni, difficilmente ammala poi di tubercolosi; e più l'individuo invecchia, più presenta resistenza finchè diventa refrattario o quasi.

Il problema delle *predisposizioni* va studiato a fondo, poichè è certo che in pratica è di grande importanza; e qui siamo nel campo dove l'apriorismo non ha valore, bisogna esperimentare. Senza l'esperimento non si può dire, in quale ambiente, in quali condizioni una determinata forma patogena si sviluppi. Mentre scriviamo questi periodi, il colera dei polli fa strage in Toscana, recando danni significanti, tanto più che la maggioranza della popolazione non osa mangiare questi animali ritenendo che il colera dei polli possa trasmettersi alle persone e tramutarsi forse in colera asiatico.

Se le cognizioni di batteriologia fossero più diffuse, si saprebbe che la carne dei polli colerosi è innocua, e che non solo noi non abbiamo alcuna predisposizione a questa malattia, ma siamo completamente refrattari. Non si deve perdere di vista che esistono malattie di natura infettiva, le quali sono limitate ad una o a poche specie animali. L'ileo-tifo ed il colera p. es. sono proprie dell'uomo; ed il colera dei polli è dei polli e di pochi altri volatili.

Oggi non si parla più soltanto di microbi patogeni dell'uomo e degli animali, ma bensì ancora di quelli che sono patogeni per le piante.

Per citarne uno solo, ricordiamo quello dell'olivo, sul quale recentemente scrisse un lavoro il signor Luigi Savastano, giungendo alla conclusione che la tubercolosi dell'olivo è causata da un batterio che per ora denomina il batterio della tubercolosi dell'olivo. Lo studio della batteriologia come si vede, procede assai attivamente, ed ormai l'anatomo-patologo, il medico, il veterinario, lo zoologo, il chimico, il botanico, nobilmente gareggiano nella scoperta di nuove forme. Ma senza divagare troppo, ritorniamo ancora a quelle fra esse che a noi più interessano, cioè a quelle che colpiscono l'organismo nostro o quello degli animali domestici, che alleviamo a caro prezzo, e spesso con sacrifici pecuniari significanti.

Crediamo utile qui di far notare che come vi ha nell'individuo una predisposizione maggiore o minore per le diverse malattie infettive, così vi ha pure una predisposizione maggiore o minore nelle diverse sue parti, o nei diversi suoi organi. Nel colera asiatico, p. es., i microbi specifici non si trovano che nell'intestino; nella risipola stanno soltanto nella pelle; nell'edema maligno dell'uomo il parassita si trova nella tumefazione, e così via. In altri casi i microrganismi si diffondono assai di più, valgano quelli determinanti il carbonchio antracico, oppure quelli che producono setticemie e piemie. Quindi è che vi sono forme patogene che si arrestano nel primo organo assalito e danno luogo ad una malattia *localizzata*, mentre altre passano da organo ad organo estendendosi sempre più e producendo in tal guisa una malattia *diffusa*. Forse conviene

aggiungere che davanti a certe infezioni tutti o quasi tutti gli organi sono egualmente predisposti; e che una volta che il microbio è penetrato nella circolazione, assale tutto il corpo, portato dall'onda sanguigna. Non si deve poi passare sotto silenzio che vi sono casi in cui l'infezione rimane localizzata per un tempo più o meno lungo in un determinato organo, e poscia si diffonde invadendo organi vicini o lontani; la stessa tubercolosi può avere questo decorso.

VII.

Vantaggi delle cognizioni di batteriologia.

Ora che abbiamo visto che vi sono tante forme patogene, le quali tutte minano la nostra esistenza, si potrebbe domandare quali vantaggi ne risultino dalla conoscenza di questo microcosmo. E qui subito si può rispondere che l'igiene fino al presente è quella scienza che più ne ha guadagnato, poichè l'attenzione nostra è rivolta ad impedire l'importazione nel nostro corpo di cotali forme, e così pure ad impedire, per quanto è possibile, che vi possano penetrare da sè. Da qui la cura dei Municipi per il miglioramento dell'acqua potabile e dell'aria, le misure di rigore dei medici e dei veterinari di fronte alle malattie infettive, le condizioni di ventilazione migliorate negli ospitali, le prescrizioni di antisettica eseguite scrupolosamente nelle diverse cliniche;

in modo speciale la chirurgica, la ostetrica e la oculistica hanno già largamente mostrato i vantaggi immensi che se ne traggono dall'applicazione dei principii sull'assistenza antisettica del celebre Lister. E che di più, nel recente congresso di Brescia, sopra proposta del dottor Duse, venne approvata l'importanza e la necessità del metodo antisettico applicato alla professione dei barbieri, allo scopo di evitare le malattie che questi possono propagare per mezzo dei rasoi; e si domanda che un apposito regolamento sanitario imponga l'antisepsi nell'esercizio di questa professione.

Con questi recenti studi molti pregiudizii sono caduti; ai termini *miasma*, dell'antica patologia, spirito sottile, aria malefica, ecc., che non dicevano niente, e che furono messi in uso unicamente per coprire la nostra ignoranza, si sostituirono quelli di microbio *a* o *b*, esseri questi di forma determinata che si possono isolare, vedere, studiare, coltivare, moltiplicare.

È stata pure richiamata l'attenzione sopra gli insetti, siccome alcuni di essi possono essere considerati quali disseminatori di germi infettivi. Il dottor Finlay, scrivendo sulla febbre gialla, dice che questa malattia può essere trasmessa a mezzo delle punture delle zanzare (Culex mosquito). Da un paio di punture soltanto si avrebbe una infezione leggera, da un numero maggiore di esse si avrebbe infezione sempre più forte fino alla massima virulenza. Secondo questo autore regolando il numero delle punture si potrebbe arrivare ad una vera vaccinazione, la quale preser-

verebbe l'individuo dalla forma acuta della malattia. Il Zagiell scrivendo sull'oftalmia purulenta, detta egiziana, dice che sopra 20 abitanti indigeni dell'Egitto se ne trovano dodici, i quali sono affetti di malattie oculari, oppure ne soffrirono per il passato. Detto autore fa osservare che il principale mezzo di diffusione di cotale malattia sono le mosche, che si posano sulla faccia degli individui ammalati e trasportano dagli occhi di questi a quelli delle persone sane il materiale infettivo. Il liquido citrino che fluisce dalle palpebre gonfie e tumefatte, egli continua, è carico di microbi facilmente riconoscibili al microscopio.

Dell'azione malefica delle mosche uno di noi ha già parlato altrove; qui ci limitiamo ad avvertire che questi insetti possono essere propagatori di infezioni, poichè posandosi e passeggiando sulle piaghe, sui cadaveri, sugli escrementi, sui vomiti, sugli sputi, ecc., di persone od animali colpiti da malattie infettive, possono poi o nel loro tubo digerente, oppure anche attaccati esternamente sulla superficie del corpo trasportare i germi patogeni per depositarli o sopra individui sani oppure anche sopra i cibi. Non è constatato se i germi che passano per il tubo digerente di questo insetto vengano uccisi, non pare però probabile, ed in ogni modo se periscono le forme vegetative, possono rimanere intatte le spore. Quelli che sulla superficie del corpo esposta all'aria hanno scalfitture, ulcerazioni, piaghe, ecc, più degli altri debbono tenere lontane le mosche, le quali frequentano volnotieri quelle porzioni lese della nostra pelle.

È poi anche noto che codesti ditteri pungono colla loro proboscide gli animali e talvolta anche l'uomo; in tal guisa non è impossibile che in certi casi, sebbene rari, pratichino delle vere inoculazioni. Si supponga per es., che una mosca colla proboscide intrisa di sangue di animale carbonchioso punga un altro animale, oppure anche l'uomo; ebbene in questo caso non si può escludere che essa possa praticare una vera inoculazione carbonchiosa. Si impedisca dunque con cura che gli insetti, di cui teniamo parola, vengano a contatto nostro e delle sostanze alimentari; si impedisca ancora, per quanto è possibile, con una pulizia rigorosa che si sviluppino, e quando ormai ci sono, si abbia cura di diminuirne il numero con gli acchiappamosche e con le sostanze venefiche, ed in pari tempo si tolga loro la possibilità di passeggiare sopra le sostanze alimentari a mezzo di moscaiole, di reticelle metalliche, di campane, di veli, ecc. Negli ospitali, nelle sale di sezione, nei gabinetti di batteriologia si introducano pure misure di rigore contro le mosche, e si tenga conto che i germi qualunque essi sieno, oltre che dalla porta col mezzo degli uomini e degli utensili, possono uscire per la finestra sul corpo degli insetti.

Gli studi batteriologici ci hanno pure guidati sopra un'altra via, cioè alla scoperta dei vaccini, ossia alla trasformazione dei virus i più micidiali, i più energici, in virus attenuati. Non parliamo qui della scoperta ormai vecchia che ha reso immortale il celebre Jenner, il quale col trasporto del virus, analogo a quello del vaiolo, dalla mam-

mella della vacca (cow-pox) nell'organismo umano è giunto a preservare dalla terribile malattia tante e tante migliaia di persone, che diversamente sarebbero state condannate a morire oppure a vivere deformate. Ma vogliamo più particolarmente accennare alle scoperte di Pasteur, il quale arrivò a trasformare alcuni virus di azione violenta in virus vaccini, atti a preservare l'organismo dalle infezioni nelle loro forme acute e spesso letali. Gli studi sopra questo argomento ed a proposito del vaccino del carbonchio antracico e sintomatico, del colera dei polli, del mal rosso dei suini, e della rabbia canina, hanno dato dei buoni risultati, ed aperto la via a nuove scoperte destinate a salvare degli esseri che diversamente, almeno molti, sarebbero condannati a morire anzi tempo. Se la batteriologia a questo riguardo fino al presente non ha ancora risolto molti problemi, non si deve disperare che possa risolverli in avvenire. Probabilmente verrà il giorno, in cui le malattie di natura infettiva saranno di molto limitate, e forse ciò avverrà per merito speciale degli innesti preventivi.

Il processo di attenuazione dei virus, ossia il modo di ottenere i vaccini d'innesto, non è eguale per le diverse forme patogene. Per il colera dei polli, Pasteur ottenne l'attenuazione valendosi di colture vecchie. Egli prese delle serie di polli e le inoculò con colture di 15 giorni, un mese, due mesi, otto mesi, dieci mesi, e potè constatare che la mortalità nei polli era massima nella serie prima, cioè in quella inoculata con la coltura più giovane e minima nella serie ultima,

cioè in quella inoculata colla coltura più vecchia. Visto dunque che la virulenza delle colture diminuisce coll'età, fino al punto da non avere sugli animali infettati che una leggera azione, il Pasteur prendeva queste colture e ne faceva altre in brodo, che servivano appunto come vaccino, il quale preservava i polli anche se dopo venivano inoculati col virus normale. Alla scoperta del vaccino carbonchioso antracico il Pasteur è arrivato per altra via. Egli vide che i polli, la cui temperatura del corpo è di 42°-43°, inoculati con colture virulenti del bacillo in discorso, non andavano affetti di carbonchio quando si lasciavano liberi, che invece ammalavano se dopo l'inoculazione si tenevano immersi nel ghiaccio o nell'acqua fredda, e terminavano col morire se non si toglievano in tempo dall'elemento refrigerante. In questo caso dunque la temperatura attenuava la virulenza, giacchè si vedevano morire i polli soltanto allora che il calore del loro corpo veniva abbassato dall'agente che lo circondava e nel quale era immerso. Partendo da questa interessante osservazione il Pasteur coltivò il bacillo antracico alla temperatura appunto di 43° circa, e in tal guisa ottenne colture di azione sempre più attenuata fino ad arrivare al vaccino per innesto. Studi accurati in proposito hanno dimostrato che tenendo una coltura di bacilli del carbonchio antracico a 42°-43° per 20 giorni, essa diventa completamente innocua; nel corso di questo periodo essa presenta una serie di virulenze gradatamente sempre più attenuate, e ciascuno di questi stadii di virulenza

attenuata può essere riprodotto a mezzo di nuove colture; da qui il vaccino del carbonchio dell'antrace. Arloing, Cornevin et Thomas hanno ridotto il virus del carbonchio sintomatico ad un vero vaccino per innesto riscaldandolo in una stufa per 7 ore di seguito a 90°-94° e a 100°-104°.

Il microbio del mal rosso dei suini viene attenuato in altro modo ancora. Se col sangue di un maiale morto di questa malattia s'infetta un coniglio, questo muore; se col sangue di questo coniglio si fanno delle colture, si ottiene un virus talmente attenuato ch'esso serve appunto quale vaccino per i maiali. Ricordiamo che il medesimo microrganismo ricupera la sua virulenza, ossia si rende di nuovo atto ad uccidere i suini, quando venga inoculato in una serie di piccioni, che fa morire in breve tempo. È interessante il fatto che un dato microbio viene attenuato nella sua virulenza passando attraverso ad una determinata specie animale, e che d'altra parte il medesimo aumenta la sua azione dannosa inoculandolo in altra specie animale più o meno affine alla prima. I risultati che si ottengono esperimentando in questo senso sui diversi animali non sono prevedibili a priori.

Istruttivo e degno di essere ricordato è ancora il metodo seguito dal Pasteur nell'attenuazione del virus della rabbia canina. Questo esperimentatore ha osservato che il virus in discorso passando dal cane nelle scimmie veniva attenuato, e ciò in modo che se col midollo di un coniglio, infettato col midollo di una scimmia morta di rabbia, si inoculava un cane, questo non solo

non ammalava, ma era innestato, e divenuto refrattario ad un virus più potente. A questo primo modo di ottenere il vaccino della rabbia il Pasteur ne sostituì poscia un altro. Egli trovò che il virus preso da un cane morto di rabbia e portato attraverso ad una serie di conigli, aumentava assai di virulenza; cosicchè mentre il primo coniglio inoculato col midollo del cane non moriva che in capo a 15-18 giorni, l'ultimo, inoculato col midollo del suo compagno morto ultimo, periva in capo a 7 giorni, che è il tempo minimo di decorso per questa malattia e in questa specie. Le midolle dei conigli così morti, collocate in appositi vasi in un'aria asciutta, vanno perdendo ogni giorno più la loro virulenza e costituiscono la serie dal Pasteur usata per il suo innesto. Di questo metodo d'innesto che non è più strettamente preventivo, come i precedenti, ma piuttosto curativo, diremo più diffusamente altrove.

Altri esperimenti a proposito di innesti preservativi e curativi sono stati istituiti recentemente dal dottor Emmerich, il quale studiò l'azione dei cocchi dell'erisipela rispetto ai bacilli del carbonchio dell'antrace, ed arrivò ai seguenti risultati: inoculando negli animali culture di cocchi dell'erisipela, e successivamente culture di bacilli dell'antrace, non ebbe infezione carbonchiosa; inoculando contemporaneamente una forma e l'altra, ebbe casi in cui gli animali non perivano come nel primo caso; inoculando infine gli animali col carbonchio e più tardi coll'erisipela, potè riescire a salvarli. Come una forma

agisca sull'altra, come questi fatti avvengano, come si combattano queste battaglie fra microbio e microbio, non è punto stabilito; per ora teniamo conto dei fatti che forse in avvenire riesciremo a spiegare.

Nell'Istituto d'igiene di Monaco il dottor Eugenio di Mattei ha continuato le ricerche dell'Emmerich, e ciò per stabilire la durata dell'immunità negli animali per i bacilli del carbonchio dopo l'innesto preventivo dei cocchi dell'erisipela. Il risultato, al quale egli giunse, è il seguente: gli animali, che sono stati preventivamente innestati con i cocchi dell'erisipela, al di là dei 10 giorni da questa prima inoculazione, soccombono all'infezione carbonchiosa, comportandosi rispetto a questa perfettamente come animali normali. Dopo tutto questo non è tuttavia da ritenere che il cocco dell'erisipela sia un antagonista specifico del bacillo dell'antrace; il Pawlowski controllò le esperienze dell'Emmerich adoperando per le inoculazioni preventive il *Micrococcus prodigiosus,* il *Pneumococcus di Friedländer* e lo *Staphylococcus aureus* e si ebbe la medesima resistenza al carbonchio già ottenuta dall' Emmerich.

Più interessanti ancora sono i risultati cui giunse il Brieger, il quale ottenne l'immunità degli animali pel *Bacillus tiphosus* mediante le iniezioni frazionate di *tifotoxina*; quest'ultima è una ptomaina secreta dal bacillo della febbre tifoidea. Ecco in proposito le conclusioni dell'autore:

1.ª Una prima iniezione di tifotossina produce

l'immunità contro gli effetti nocivi di una nuova infezione, anche contro una grande quantità della sostanza tossica.

2.° Esperienze ulteriori ed un'osservazione clinica accurata sono necessarie per dare una base scientifica alla teoria dell'immunità colle iniezioni di colture sterilizzate non contenendo che quantità determinata di tifotoxina.

3.° In caso questa teoria poggiasse sopra una base certa, la riproduzione di questa immunità nell'uomo non sarebbe giustificata che incominciando con dosi debolissime di tifotoxina, che aumenterebbero gradatamente a seconda dei risultati che si ottenessero.

Foa e Bonome hanno pure trovato un innesto peculiare che probabilmente ha dei punti di contatto con quello ora esposto.

Se si inietta nell'addome o nelle vene di un coniglio un cc. di miscela acquosa a parti eguali di coltura recente in gelatina di *Proteus vulgaris*, l'animale muore in 24 ore o meno. Se col sangue o coi visceri freschi dell'animale così morto si infetta un altro coniglio, questo sopravvive, sebbene collo stesso materiale si possano ottenere colture di Proteo, le quali esse pure sono assai virulenti e fanno perire rapidamente gli animali inoculati. Gli autori, constatato che questo fenomeno si presenta con costanza, hanno voluto vedere, se l'animale che aveva subíto senza effetti notevoli l'inoculazione del sangue di altro animale della stessa specie, morto rapidamente per infezione di coltura pura di Proteo, fosse reso senz'altro refrattario all'azione delle colture virulenti. A

tale scopo furono infettati molti conigli colla coltura di Proteo, e si vide che tutti morirono in un periodo di 24 ore; col sangue di questi furono inoculati altri conigli, i quali guarirono dopo breve e leggero malessere. Passati tre giorni furono presi alcuni dei conigli così inoculati ed altrettanti che non avevano subíto alcuna operazione; tutti vennero inoculati colla coltura pura di Proteo, e si ebbe per risultato che i primi rimasero tutti illesi, i secondi morirono tutti. Questo processo, ripetuto, diede risultati sempre eguali.

Affatto recentemente gli stessi autori conferirono ai conigli l'immunità contro il Proteo volgare mediante la *neurina*, sostanza venefica bene conosciuta, e proveniente dalla decomposizione putrida delle sostanze organiche. Presero la neurina nella soluzione di 0,1 milligr. per 100 cc. di acqua, e la iniettarono nelle proporzioni da $^1/_2$ a 2 cc. nella giugulare dei conigli. Dopo otto giorni ai conigli così trattati e ad altri venivano iniettati nell'addome 3 cc. di coltura di Proteo in gelatina; si vide che quelli precedentemente trattati con neurina sopravissero, gli altri morirono.

Prima di chiudere questo capitolo ricordiamo ancora i tentativi fatti in questi ultimi anni di distruggere un microbio a mezzo di un altro microbio, o, in altre parole, di applicare la *batterioterapia*. L'idea è partita dal Maggi, il quale ne disse in proposito nella sua prelezione *Protisti e malattie* del 17 novembre 1882. Due anni più tardi, nel 1884, il Cantani sottopose alla prova dell'esperimento l'idea del Maggi cercando di

combattere il bacillo della tubercolosi colle inalazioni del *Bacterium termo*; vi fu un momento, in cui questa cura sembrava trionfare, ma ripetuti gli esperimenti dal Sormani, dal Maffucci, dal Salama e anche da noi nella clinica medica di Padova, essi diedero, come era da prevedersi, risultati completamente negativi, e la batterioterapia a metodo Cantani venne abbandonata. Essa invece trovò una applicazione utile nelle esperienze di Emmerich, che più sopra abbiamo riassunte, ed è assai probabile che in seguito acquisti una più ampia diffusione nella terapia. Nei gabinetti batteriologici, per iniziativa di Babes e di altri, furono fatti degli esperimenti, e si continuano tuttora, per studiare la concorrenza vitale nella lotta per l'esistenza, ossia l'azione di un microbio sopra un altro, coltivati in diversi substrati nutritivi, per poter giungere a dei risultati terapeutici; ma non si deve essere troppo corrivi nell'applicazione di essi, giacchè quanto avviene in un tubo d'assaggio o sopra una piastra di gelatina, può non avvenire nell'ammalato, dove dobbiamo combattere delle difficoltà che soltanto in parte conosciamo.

E così continuano ed aumentano in buon numero le esperienze, le quali hanno per iscopo di condurre al mirabile risultato di rendere l'uomo e gli animali refrattari alle diverse malattie di natura infettiva. Leggiamo, ad esempio, che in questi giorni all'Accademia di Medicina di Parigi il Pasteur presentò un lavoro del dottor Gamaleïa, nel quale è riassunta l'importante sco-

perta della vaccinazione preventiva del colera asiatico.[1]

Come risulta da quanto è stato esposto, i metodi per ottenere le diverse attenuazioni sono finora affatto empirici, e costituiscono dei fenomeni molto complessi ed in pari tempo molto oscuri. Soltanto sappiamo che ora è necessario l'invecchiamento della coltura, ora l'azione dell'ossigeno, ora quella della luce, ora quella della temperatura, o il passaggio dei microrganismi attraverso il corpo di animali di specie diverse; senza parlare del metodo di attenuazione del virus rabido che è fra tutti il più misterioso ed il più empirico.

La chimica, che è il braccio destro della batteriologia, probabilmente verrà presto a dirci, in quale maniera agiscano i vaccini; intanto teniamo conto dei risultati che ci vengono portati da alcuni tentativi, i quali, sebbene non ancora spiegati, sono tuttavia di grande giovamento per l'igiene dell'uomo e degli animali.

L'immunità data dai diversi vaccini si perde in capo ad un certo tempo. Così ad es., il vaccino del vaiolo ha su di noi un'azione preservativa per un periodo di 5 a 10 anni; quello del colera dei polli, del carbonchio antracico, del mal rosso dei suini, ha azione pure preservativa sugli animali innestati per circa un anno, periodo di tempo che è spesso sufficiente per allevare ed ingrassare molti animali domestici.

---

[1] Vedi Parte speciale « Colera asiatico ».

VIII.

Come si possono evitare i microbi.

Questo problema è uno dei più difficili e più complessi. Le vie d'entrata di codesti organismi nel nostro corpo, l'abbiamo già detto, sono parecchie, e per di più essi ci circondano in numero sempre assai rilevante, da qui la difficoltà di impedire che ci assalgano. Non basta il dire che l'ambiente è sempre atto ad infettare; il grande segreto consiste nel conservarci o nel renderci refrattari alla sua azione malefica. E d'altra parte una cosa non esclude l'altra, l'igiene giungerà al suo apice, quando noi presenteremo a detti organismi la massima refrattarietà, ed in pari tempo col migliorare l'acqua e l'aria li avremo ridotti ad un numero minimo. A tutto questo è l'igiene che deve provvedere, ma noi non dobbiamo da essa attenderci che quello che ci può dare.

E certo che non potrà rendere tutti gli organismi, e sempre, refrattari ad una data infezione, e del pari non avrà modo di collocarci in un ambiente, il quale sia completamente scevro da microbi; potrà diminuirli, ma non sopprimerli affatto. Chi può però prevedere i vantaggi che possono derivare all'umanità da una diminuzione di cotesti esseri, sia nell'aria che nell'acqua? Muoviamo dunque ad essi una guerra al più possibile sterminatrice, riduciamo il loro numero, e avremo di certo reso migliore, cioè meno pericoloso, l'ambiente in cui viviamo.

L'acqua che attraversa e dilava paesi, contrade, campi e praterie, asportando ogni sorta di immondizie, si carica naturalmente anche di microbi, i quali vengono trascinati nei pozzi e nelle fontane onde attingiamo l'acqua per bere. La quantità di questi organismi contenuta in essa è naturalmente assai variabile a seconda che questa è tolta alla sorgente o a poca distanza da essa, a seconda della provenienza lontana dai centri popolosi, e la percorrenza attraverso a strati superficiali o profondi; di più hanno influenza la temperatura, le sostanze in essa disciolte o sospese, l'alcalinità ecc.

Il Miquel ha calcolato la quantità di microbi per litro nelle diverse acque di Francia, e ne trovò nel vapor acqueo condensato 900; nell'acqua di pioggia, 64,000; in acque correnti diverse 48,000, 248,000, 4,800,000, 12,800,000, 80,000,000.

Si osservi bene che qui si parla di microbi in genere, e naturalmente la gran maggioranza e forse tutti, erano innocui, eventualmente alcuni persino utili.

Le nostre cognizioni odierne in proposito non ci permettono di dividere cotesti microrganismi in dannosi ed utili; sappiamo soltanto che talvolta nelle acque si trovano delle forme atte a produrre malattie infettive; intorno alle altre, che a queste si trovano mescolate, non possiamo ora dare alcun giudizio. In quanto alle prime è certo che dobbiamo evitarle con cura. Il far uso quale bibita dell'acqua dei nostri pozzi, generalmente poco profondi, sarà tanto più pericoloso, quanto più infieriscono sul sito, oppure sulla via dalle acque percorsa, malattie infettive. L'acqua non è

di certo un mestruo nel quale i microbi patogeni si trovino molto agiatamente, è però positivo che parecchi si conservano vivi in essa per un tempo assai lungo. Le ricerche di Straus e Dubarry, nostre e di altri lo dimostrano. Dei bacilli virgola posti nell'acqua distillata e sterilizzata il giorno 31 aprile 1886 li abbiamo trovati vivi ancora il 12 luglio dello stesso anno, tanto che inoculati nelle gelatine si svilupparono prontamente in colonie caratteristiche. Per alcuni microbi, tanto patogeni quanto innocui, è anche dimostrato che non soltanto si conservano a lungo, sia sotto la forma vegetativa, sia sotto quella di spore, specialmente se l'acqua ha una temperatura piuttosto elevata, ma possono eziandio, in determinate condizioni, riprodursi. Dalle esperienze del dottor Leone risulta che per qualche giorno si riproducono rapidamente, poi rapidamente vanno diminuendo. In un cc. di acqua di Maugfall (Monaco di Baviera) appena raccolta l'autore rinvenne 5 microbi; messa in recipienti sterilizzati e ben tappati a 14°-18° ed esaminata ogni 24 ore trovò:

dopo 1 giorno	più di	100	microbi
» 2 giorni	»	10,500	»
» 3 »	»	67,000	»
» 4 »	»	315,000	»
» 5 »	»	500,000	»

finalmente constatò l'arresto della moltiplicazione e successivamente la rapida diminuzione delle forme in osservazione.

Prima cura di ogni città dovrebbe essere quella

di avere in abbondanza acqua sorgiva proveniente da luoghi elevati, dove nel terreno sono minime le probabilità d'infezione. Quelle che scaturiscono da luoghi alpestri, risultano le più sane; buone sono pure quelle dei colli. Roma, Pisa, Napoli, Padova ed altre meritano in questo ogni elogio, ed è desiderabile che il loro esempio venga imitato. Per riguardo alle acque nel 1885 le condizioni dei nostri Comuni, quali risultano dall'inchiesta pubblicata dalla direzione generale di statistica, erano tutt'altro che floride. Hanno dichiarato di avere acqua potabile buona e sufficiente 5535 di essi; 842 l'hanno buona, ma scarsa; è mediocre e sufficiente in 882; mediocre e scarsa in 381; cattiva e sufficiente in 346; cattiva e scarsa in 272.

Mentre scriviamo queste righe, da quell'epoca sono passati quattro anni, e noi abbiamo la compiacenza di constatare che attualmente essi Comuni fanno una nobile gara per migliorare le loro acque spendendo spesso delle somme vistosissime.

La statistica più dolorosa nel 1885 è quella della fognatura. Risulta che 541 Comuni hanno le vie munite in tutto o in parte di fogne, le quali servono anche per il trasporto di materie diverse; 1313 Comuni, nei quali i condotti sotterranei servono esclusivamente per raccogliere le acque di pioggia o provenienti da usi domestici o da fontane; 6404 Comuni mancano di qualunque sistema di fognatura. Riguardo alle latrine sono soltanto 908 i Comuni che dichiarano di avere tutte le abitazioni provviste di latrina; mancano in parte

in 2428 Comuni; mancano per lo più in 3636, e mancano quasi intieramente in 1286. I pozzi ordinarii sono di solito poco profondi, e non di rado stanno accanto a latrine, stalle, concimaie e via dicendo. Facilmente si comprende che essi sono immondezzai che l'igiene vorrebbe distrutti. L'acqua filtra in essi trascinando seco organismi i più svariati. Più di una volta dell'acido fenico, lasciato cadere a titolo di esperimento nelle latrine, è poi riapparso nell'acqua dei pozzi vicini, mostrando così con chiarezza anche troppo evidente, quanto quelle acque siano impure ed antiigieniche. Nè si deve ritenere dalle persone che abitano le città, che la sanità dei pozzi di campagna non le riguardi. Non dimentichiamo che il latte ci viene dalle campagne, e che nella massima parte dei casi è generosamente inaffiato; soltanto in via eccezionale contiene poca acqua, cioè solo quella che è rimasta aderente alle pareti del vaso che servì per lavarlo. È probabile che di frequente l'ileo-tifo, il colera, la difterite ed altre malattie, sieno state portate in questo modo dalle campagne in città; ciò che si comprende anche meglio, quando si pensa che il latte è un ottimo substrato di nutrizione, nel quale facilmente e presto si sviluppano rigogliose colonie di microbi. La questione dell'acqua racchiude uno dei più importanti problemi dell'igiene. I pozzi ed altri serbatoi d'acqua potabile, i quali non sieno abbastanza profondi, nè sufficientemente discosti da concimaie, latrine, stalle, ecc., e collocati in modo che non vi possano mai avvenire infiltrazioni per parte di queste ultime,

dovrebbero essere chiusi d'ordine delle competenti autorità.

L'abitudine che ha la gente ignorante di lavare nei corsi d'acqua la carne di animali morti di carbonchio o di altre malattie di infezione, le biancherie di persone affette o morte di tubercolosi, di tifo, di colera od altre, può portare conseguenze fatali a quelle persone che si trovano sulla linea percorsa da dette acque e che sono costrette a servirsi di queste per scopo alimentare. Comunque, quei paesi o quelle città che possono condurre l'acqua da regioni montuose e in canali chiusi, sfuggono di certo a molti pericoli. Diciamo in canali chiusi e diamo a questo fatto grande importanza. Un'acqua, anche se deriva da sorgenti purissime, può facilmente diventare antigienica per essersi inquinata di materie settiche lungo il tragitto percorso; è dunque condizione essenziale ch'essa non abbia mai alcun contatto con sostanze che potrebbero viziarla. Chi non può godere di questi vantaggi, conoscendo come l'acqua trasporti da un luogo all'altro uova od embrioni di vermi parassiti, e quello che è peggio molte forme di microbi patogeni, dovrebbe sempre berla bollita; usandola cruda come bibita, quando è nota la sua provenienza sospetta, ci esponiamo ad un pericolo, il quale sarà maggiore al mattino, cioè quando lo stomaco da molte ore non lavora, e quindi non contiene la voluta acidità per la distruzione dei microbi eventualmente ingeriti. Siccome assai di frequente nè l'aspetto esterno, nè l'analisi batteriologica, e tanto meno la chimica, possono con

tutta sicurezza accertare l'innocuità di un'acqua potabile, così è sempre prudente il farla bollire prima di berla, a meno che la sua provenienza non ci sia di assoluta garanzia. Alcuni consigliano di acidularla con acido citrico (un grammo per litro) prima di scaldarla. In Inghilterra viene preparata in grande quantità l'*acqua salutaris*, che è acqua distillata, in cui è disciolta una certa quantità di aria, e specialmente di acido carbonico. È noto che i bambini, i ragazzetti hanno molta predisposizione per alcune malattie intestinali, e spesso ammalano e muoiono; ebbene somministrando ad essi fin da principio un'acqua sicuramente sterilizzata, cioè esente da microbi, non si potrebbe forse migliorare questo stato di cose? Ai bambini alimentati con latte di vacca diluito sarà sempre apprestata la mescolanza previa bollitura. Si noti che queste misure diminuiscono assai la probabilità d'ingestione di uova di vermi parassiti e delle loro larve, quindi saranno sempre da consigliarsi e da adottarsi perchè antimicrobiche e antielmintiche, ossia antiparassitarie in genere.

Un altro veicolo dei microbi, e sul quale è pur bene di richiamare l'attenzione, è certamente l'aria. In essa, a seconda delle località e dello stato dell'atmosfera, brulicano ora più ed ora meno abbondanti questi esseri, che di continuo ed ovunque ci circondano. Molti sono gli autori che studiarono la micrografia atmosferica, e fra essi ricordiamo il Miquel che se ne occupò molto di proposito. L'argomento tuttavia, per le grandi difficoltà che presenta, non è stato svolto comple-

tamente; la parte che riguarda il trasporto di malattie infettive a mezzo dell' aria lascia ancora delle lacune.

I microbi e le loro spore ci stanno sempre d'intorno; nelle case si depositano assieme al pulviscolo sui mobili, e vengono poi rimessi nell'aria da chi fa la pulizia col battere e collo spazzolare. Da questo punto di vista saranno da preferirsi le stanze arredate in modo assai semplice; le stuoie, i cortinaggi, i tappeti, ecc., dànno sempre ricetto a polvere ed a microbi. Miquel ha calcolato che il numero dei microbi nella polvere varia assai; negli ambienti dell' interno di Parigi egli potè constatarne da 1,300,000 a 2,000,000 per grammo. Ammesso che fra essi ve ne siano di patogeni, ne deriva l'utilità di impedire nelle case la formazione di tali depositi, tenendole aereate per bene e avendo cura di pulire gli oggetti possibilmente con stracci inumiditi. Negli ospitali ed in altri luoghi, dove con maggior probabilità si possono trovare microbi patogeni, queste precauzioni si rendono anche più utili che in case private, specialmente se queste godono di una buona posizione, se sono isolate, se trovansi fuori di città, in campagna aperta o sopra alture. Le cifre rappresentanti i microbi nelle sale degli ospitali di Parigi *Hôtel Dieu* e *Notre Dame*, riferite dal Miquel, sono veramente assai elevate. Nelle sale del primo trovò una media di 5120-6300 microbi per mc. (ricerche fatte da giugno a settembre); in quelle del secondo, una media di 11,100 per mc. (ricerche fatte dal marzo 1881 al maggio 1882). Anche nel suo laboratorio batte-

riologico, l'autore citato, trovò un numero di microrganismi assai significante.

Da quanto abbiamo sopra esposto risulta che noi e gli oggetti che ci circondano siamo costantemente immersi in un'atmosfera di microrganismi, i quali si vanno depositando ovunque penetra l'aria. Quanto sia oscillante la cifra di codesti esseri da essa trasportati, è quasi inutile il dirlo; ognuno facilmente lo può immaginare. Le stagioni, e quindi la temperatura, lo stato dell'atmosfera umido o secco, e sopratutto la posizione, hanno la loro parte. Come l'acqua è peggiore nei luoghi bassi, altrettanto lo è l'aria. Le esperienze di Pasteur, di Tyndall e di altri vengono a dirci che quanto più ci innalziamo in regioni alte dalla pianura e tanto meno vi rinveniamo microbi. Queste nozioni, almeno rispetto alla malaria, erano conosciute anche in tempi da noi lontani. Roma non fu fabbricata per caso sui sette colli; come per caso non occupano in altre regioni malariche i punti più elevati tante belle villeggiature ed anche parecchi conventi di frati. In una stessa casa, da questo punto di vista, vi è differenza fra il piano terreno ed i piani superiori; questi ultimi sono sempre da preferirsi. La soffitta rappresenterà di solito il piano meno nobile, e in pari tempo il meno visitato dai microbi. Chi attraversa le Maremme toscane o le campagne di Roma, vede ancora oggi i contadini, obbligati a dormire in quei luoghi malarici, pernottare sopra piattaforme sostenute da palafitte. Già queste piccole altezze sono sufficienti per preservare tanta povera gente dal miasma palustre, che va radendo il suolo.

Scarsezza di microbi troviamo, oltre che nelle regioni elevate, che costituiscono quindi per tale riguardo luoghi di dimora assai igienici, anche nell'aria marina ad una certa distanza dalla terra; quest'asserzione è confermata dai recenti studi di Moreau e Plantymansion eseguiti nell'Oceano Atlantico.

Quando tutti saranno compresi dell'importanza degli studi batteriologici, e dei vantaggi che ne derivano, l'aria migliorerà rapidamente anche nei nostri centri popolosi, poichè sarà cura di ognuno nell'interesse proprio e degli altri di impedire la diffusione dei microbi patogeni. Ormai al presente i Municipi intelligenti, come migliorano l'acqua potabile, procurano di migliorare l'aria colla pulizia delle contrade, colla bonificazione dei luoghi bassi e paludosi, con prescrizioni rigorose ai medici e veterinari, colla costruzione di edifici pubblici bene aereati ed asciutti, ed in altri modi ancora. Ma l'opera dei preposti alla pubblica igiene non sarà completa che quando il popolo sarà bene istruito in argomento, che quando cioè sarà universalmente proclamata la *caccia ai microbi patogeni*. Allora si avrà cura di disinfettare attivamente tutto ciò che desta sospetto: sputi di persone affette di tubercolosi, deiezioni di tifosi e colerosi; biancherie, coperte, vestiari e materassi di persone colpite da qualsiasi malattia di infezione. Saranno tenute lontane le mosche ed altri insetti dalle sostanze alimentari, e dal nostro corpo. Sarà rivolta molta cura alle ferite per non esporle all'aria, essendo noto che la sifilide, la difterite, il vaiuolo, il morbillo, la

scarlattina, si possono contrarre per contagio diretto. Ognuno porrà in pratica misure di rigore, quando nella propria stalla si svilupperanno il moccio, il carbonchio od altre simili malattie, per impedire che il male si propaghi ad animali vicini e all'uomo stesso.

Saranno ridotti di molto i cani, che troppo di frequente vanno affetti di rabbia; quelli che non sono ritenuti necessari per caccia o per guardia o per altre prestazioni utili, verranno sacrificati. *Salus publica, suprema lex*, e le nostre signore si rassegneranno a non tenere più cagnolini rachitici e schifosi, vere mostruosità nella loro specie. Non verranno sezionati cadaveri di uomini o di animali che con tutte le precauzioni, giacchè in alcuni casi ferirsi vuol dire inocularsi una malattia che non perdona, che inesorabilmente porta alla tomba. Sarà data una migliore ventilazione agli ospitali, alle chiese, ai teatri e alle caserme; e verranno migliorate le condizioni di molte scuole di primo grado, dove si raccolgono per parecchie ore del giorno numerosi bambini in ambienti angusti, umidi, oscuri, e poco o niente ventilati. A proposito di ospitali aggiungiamo che non andrà a lungo che si terranno tutti gli individui affetti da malattie infettive rigorosamente discosti, spartati dagli altri e divisi per sezioni. Gli stessi colpiti da tubercolosi si collocheranno appartati da ogni altro ammalato, per impedire che un individuo il quale va a farsi curare da una indisposizione in una sala di ospitale, invece di trovarvi la guarigione, venga poi colpito da un morbo ben più grave del primo, la tuberco-

losi. La sorveglianza di codesti ammalati sarà affidata a persone robuste e di età piuttosto avanzata, le quali avranno istruzioni precise e rigorose per impedire la dispersione dei microbi patogeni e per conservare l'ambiente al più possibile aereato ed igienico.

Anche l'abitudine di spazzare le vie della città nelle ore di giorno sarà tolta; gli spazzini dovrebbero compiere il loro servizio nelle ore di notte e previa bagnatura delle contrade, altrimenti i passanti vengono ravvolti in una nuvola di polvere microbica che sono obbligati di respirare; con questa nuova misura s'impedirebbe pure il penetrare nelle case di tanta copia di pulviscolo, e il suo depositarsi negli ambienti. Pur troppo già così il vento, le carrozze, e non di rado gli abiti delle signore, sollevano dal suolo della polvere in abbondanza, senza che altre cause intervengano ad aumentare la diffusione e la disseminazione dei microbi e delle loro spore. Si penserà ancora, e seriamente, a migliorare le abitazioni dei diseredati dalla fortuna; certi tuguri del povero oscuri, umidi, non ventilati, pieni di immondizie, sono focolai di microbi che l'igiene domanda che sieno distrutti. La nettezza privata e pubblica estesa alle persone, alle cose, alle abitazioni, al suolo e al sottosuolo, costituisce la base fondamentale e più sicura per giungere a togliere le malattie miasmatiche ed infettive. Le cloache e le fogne sono quelle che nelle nostre città devono essere riformate; l'aria che in esse si fa molto stagnante e riesce poi a sprigionarsi per entrare nelle nostre case, trascina

seco moltitudini spaventevoli di microbi, e fra essi non di rado dei patogeni. Le aperture dei cessi devono sempre essere lontane dalle cucine e da altri ambienti, dove si apprestano o si conservano cibi; parimenti dannose sono le comunicazioni dirette degli acquai delle cucine con le cloache.

I vantaggi di un'aria buona, e di un'acqua fresca e di fonte erano preveduti anche prima della scoperta dei microbi; le stazioni di salute alpine, dove non si fa che la cura dell'aria e dell'acqua comune, ce lo attestano. Fortunati coloro che almeno per molti mesi dell'anno possono vivere lontani dai centri popolosi, in case isolate, all'altezza di parecchie centinaia di metri sul livello del mare, circondati di praterie e in mezzo a boschi di conifere. Quell'aria ozonata è balsamica, è ricostituente, è eminentemente antimicrobica. Dobbiamo anche ammettere che dato il caso che essa contenga delle forme patogene, queste sono di provenienza lontana, e quindi sarà probabile che sieno morte o per lo meno che abbiano perduto di molto il loro potere infettante.

L'aria, l'acqua e la luce hanno una grande influenza sulla salute dell'uomo; aria pura e libera, acqua fresca e di sorgente, luce abbondante e diffusa sono gli elementi che l'igiene esige.

Nel XIV Congresso della società tedesca per l'igiene pubblica tenutosi recentemente a Francoforte sul Meno furono consigliate delle prescrizioni concrete, *sulla costruzione delle case, sul*

modo di abitarle, sulle condotture delle acque e delle latríne e così via.

La vita in certe catapecchie, in certi sotterranei, non è quasi possibile. Non parliamo di quella che alcuni condannati traggono nelle prigioni, che muove a compassione; non discutiamo i diritti della giustizia punitiva; ma il gettare i condannati in ambienti umidi, oscuri, angusti, dove l'aria è per tante ragioni irrespirabile, è cosa assolutamente inumana. Se questi disgraziati hanno perduta la libertà, non abbiamo il diritto di togliere loro anche l'aria e la luce, senza incorrere nella taccia di infliggere ad essi una pena peggiore della morte.

Il migliorare le condizioni igieniche di un popolo vuol dire abbassare la mortalità generale. Menfi, città posta sulla sponda sinistra del Mississipì, ce ne dà uno splendido esempio. La mortalità in quella popolazione prima del 1879 era del 35 per 1000. Più tardi essa venne risanata senza badare a spese di sorta, ed ora la mortalità è discesa dal 35 al 9 per 1000. Le stesse cose si potrebbero dire per alcune città dell'Inghilterra, [1] valga Liverpool per tutte. In essa la mortalità media nel decennio 1865-75 è stata del 32,2 per 1000 all'anno, ed ora si è abbassata a circa l'8 per 1000. Le spese sostenute da questa ed altre città per giungere a tali risultati furono

[1] Alcune città degli Stati-Uniti sono a questo proposito egualmente celebri. A Salisbury la mortalità è stata ridotta dal 40 al 16 per 1000; a Dawer dal 28 al 14; a Bugby dal 29 al 12; a Croydon dal 28 al 10; a Mtlick dal 19 al 9. Queste cifre sono state tolte dal Giornale « *La Salute Pubblica* ».

ingenti. In Italia le cifre che rappresentano la mortalità media annua per ogni mille abitanti sono sempre elevate, ed il presente specchietto ce lo dimostra:

Napoli 28,50; Torino 25,44; Ferrara 29,08; Alessandria 24,86; Milano 29,07; Genova 27,13; Bologna 27,29; Padova 27,59; Bari 30,04; Roma 26,22; Firenze 26,93; Catania 30,91; Lucca 24,70; Brescia 34,67; Venezia 31,58; Livorno 22,24; Verona 28,09. Quando pensiamo che la febbre tifoide, la febbre da malaria, il morbillo, la difterite, e tante altre malattie da infezione fanno annualmente tante vittime umane, si comprende facilmente, come si possa riescire ad abbassare di molto le cifre di mortalità sopracitate. È calcolato che le malattie da infezione in Italia, senza contare la tubercolosi, uccidono in media il 5 per mille della popolazione, e cioè da 145 a 150 mila individui all'anno. Gli igienisti sostengono che tali cifre, migliorando le condizioni generali delle abitazioni, del suolo, della fognatura, dell'acqua ecc., possano essere di molto ridotte, cioè anzichè il 5 per 1000 si potrebbe forse avere il $^1/_2$ per 1000.

IX.

Classificazione dei microbi.

Esposto ciò in modo affatto riassuntivo, prima di abbandonare le generalità sui microbi, dobbiamo accennare brevemente alla loro classificazione.

Una classificazione naturale di questi esseri non può al presente essere data per la poca conoscenza che noi ancora abbiamo intorno ad essi, ossia intorno alla loro biologia. Per poter presentare un sistema di classificazione esatto, sarebbe necessario di conoscere di ogni microbio il modo di accrescimento nei diversi substrati, la forma ed il colore delle colonie, tenendo di vista se le medesime liquefanno o meno le gelatine, e se tendono a svilupparsi alla superficie oppure verso il basso. È certo che il substrato di nutrizione, la temperatura, il grado di umidità, e chissà quali cause ancora, hanno tanta azione sui microbi quanta noi al presente non possiamo prevedere. — Essi non si sviluppano egualmente bene in tutti i mestrui; ve ne sono di quelli che esigono una determinata sostanza, mentre altri indifferentemente si riproducono e prosperano nei mezzi di nutrizione i più svariati. Di frequente poi succede che due o più forme, pur sviluppandosi in più mezzi nutritivi, preferiscano l'uno ad un altro, ed allora accade che quella a cui meglio si addice il substrato, si riproduce assai rapidamente, e le altre o vengono soppiantate affatto, oppure rimangono in grande minoranza. D'ordinario la riproduzione di cotesti microrganismi si compie assai rapidamente; però ciò non accade per tutti, ed allora la coltura del microbio si rende più difficile. Se il bacillo della tubercolosi non si sviluppasse tanto lentamente, non sarebbe così difficile ottenerlo in coltura isolata. Le lotte che di continuo si combattono nei nostri gabinetti batteriologici nei tubi d'assaggio fra mi-

crobi e microbi, sono certamente interessanti ed istruttive e forse un giorno, come già si disse, porteranno a scoperte nuove, a risultati di grande utilità nella pubblica igiene.

È necessario vedere, se le forme che si studiano, sono mobili o meno, se sono sporificanti o meno, se e come agiscono su di esse le diverse sostanze coloranti. Non si deve annettere troppa importanza alla forma; specie molto differenti nella loro azione possono essere morfologicamente identiche. Se si tratta di microbi patogeni, ottenute le colture pure, è mestieri di tentare l'infezione di animali affini il più possibile a quello da cui si ebbe il materiale originario, e attenderne i risultati.

Il Koch ha messo per principio che quando una coltura pura, trasportata da un mezzo di nutrizione in un altro, si riproduce con costanza per parecchie generazioni nella stessa forma e coi medesimi caratteri biologici che manifesta anche quando si sviluppa nell'organismo animale, si deve con ragione concludere che può essere classificata come specie a sè. La sola forma, in questi esseri, ha un'importanza più relativa che assoluta, a meno che non si considerino sempre nelle medesime condizioni di età, di temperatura, di substrato, di umidità, e così via. In caso diverso si può anzi dire che un certo polimorfismo, determinato da cause diverse, non è infrequente.

Alcuni autori, auspice il Koch, sono d'accordo nell'ammettere la costanza morfologica dei vari microrganismi, nel ritenere cioè che le forme di

cocco, di bacillo, di spirillo, ecc., sono organismi che stanno a sè, e che costituiscono altrettante specie distinte. Altri, e a capo di tutti il Nägeli, sono di opinione contraria, cioè, credono che le forme citate stieno in rapporto genetico fra di loro, ossia che cambiando il substrato di nutrizione le une possano tramutarsi nelle altre. Il Nägeli è tanto accalorato nella sua asserzione, che arriva persino a scrivere il seguente periodo che riportiamo testualmente « una medesima specie dopo alcune generazioni prende successivamente delle forme differenti, variabili morfologicamente e fisiologicamente. Nel corso degli anni o dei secoli una di queste forme acquista la proprietà di produrre l'acidità del latte, un'altra di dare dell'acido butirrico in date sostanze, una terza di guastare il vino. Finalmente se ne vedono altre che alterano l'albumina, che decompongono l'urea, che colorano in rosso le materie alimentari contenenti dell'amido. Le medesime forme danno il tifo o la febbre ricorrente o il colera o la febbre intermittente. »

Se queste asserzioni fossero vere, una classificazione razionale dei microbi sarebbe impossibile oggi e sempre. Contro l'opinione del Nägeli e dei suoi compagni, e in favore del Koch e della sua scuola, stanno gli esperimenti del Brefeld, del Van Thieghem e di altri, che seguirono per molte generazioni e con una tecnica rigorosa parecchie specie di microbi senza mai rilevare in esse delle modificazioni significanti. Gli studi di Gaffkr e di Löffley sul bacillo carbonchioso e molte nostre osservazioni sopra questa stessa

specie, sul vibrione colerigeno, sul megaterio ed altre forme, militano pure in favore della distinzione della specie. A ciò aggiungasi che il Koch afferma di aver coltivato per oltre due anni dei bacilli della tubercolosi, i quali, anche dopo la centesima generazione, si mostrarono costanti nella forma e nella virulenza.

Molti autori hanno presentato delle classificazioni più o meno soddisfacenti, delle quali però nessuna è stata fino al presente accettata definitivamente. Fra le migliori abbiamo quelle di Cohn, Robenhorst, Pflügge, De Barry. In generale sono molto complesse e quindi poco accessibili per chi non sia batteriologo; una delle più semplici e facili è quella del Cohn, che qui riportiamo.

L'autore divide i suoi batteri, che sono i nostri microbi, in quattro gruppi principali che sono: gli *sferobatteri*, i *microbatteri*, i *desmobatteri* e gli *spirobatteri*.

Gli sferobatteri sono costituiti di cellule rotondeggianti, di diametro variabile ma sempre piccolissimo. Riguardo alla loro disposizione, si chiamano *diplococchi*, se uniti due per due; *streptococchi*, se collocati in catenella (fig. 1, *b*), *sarcina* se uniti a quattro formando dei cubi (fig. 1, *c*); *stafilococchi*, se distribuiti in gruppi o grappoli più o meno regolari (fig. 1, *a*); *ascococchi*, se circondati da una capsula gelatinosa resistente. Queste forme si comprendono anche sotto il nome generico di *cocchi*.

I microbatteri sono formati da cellule cilindriche ad estremità rotondate; sono mobili, corti, d'ordinario isolati o riuniti a due; chiamansi anco *batteri* (vedi in campo *d*, fig. 1).

I desmobatteri sono cellule allungate, a forma di bastoncino, spesso sporificanti; sono *bacilli* (vedi in campo *d*, fig. 1). Se il bacillo è notevolmente lungo e diritto, oppure anche leggermente ondulato si chiama *leptotrix* (fig. 1, *2*). In questo gruppo vi sono ancora altri generi, ma poco importanti.

Gli spirobatteri sono cellule allungate, di solito a cavaturaccioli, con le spire ora brevi e sottili

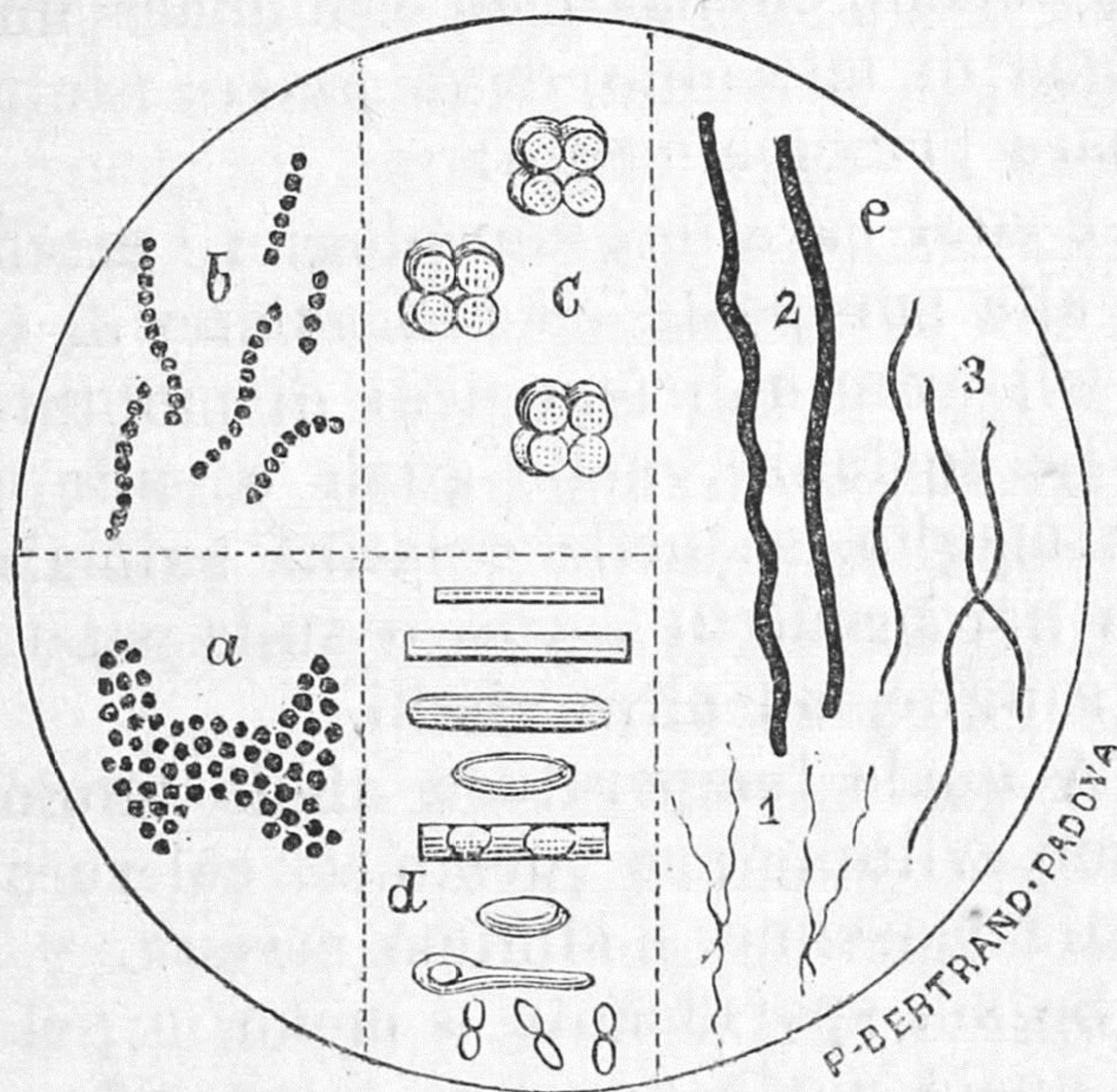



Fig. 1.

spirocheti, (fig. 1, *1*), ora lunghe e grosse *spirilli*, (fig. 1, *3*). Quando le cellule rappresentano un segmento di luna, un arco di circolo, formano i cosidetti *vibrioni*.

Questa classificazione, che è molto artificiale, ha il vantaggio di darci un concetto abbastanza esatto delle forme più comuni. Succede però, e

non di rado, di avere sott' occhio degli esemplari da non sapere a quale gruppo ascriverli. Anche qui, come in tanti altri casi, si può dire che *Natura non facit saltus*, e infatti vi sono dei cocchi che fanno passaggio ai batteri e che non sono nè bene gli uni nè bene gli altri, ma bensì dei veri *cocco-batteri*. Vi sono dei batteri che somigliano a bacilli; e così dicasi per qualche altra forma ancora.

Quando siamo chiamati ad esaminare una qualsiasi forma di microbio, deve essere nostra cura di studiare principalmente:

1. I suoi caratteri morfologici,[1] attenendoci per ora alla suesposta classificazione di Cohn.

2. Gli eventuali fenomeni di mobilità.

3. Le sostanze, nelle quali o sulle quali si sviluppa meglio, se nella gelatina animale o vegetale, o nel brodo di carne, o sulle patate, o nel siero di sangue, od altre simili.

4. A quale temperatura abbia luogo il regolare suo sviluppo; se questo sia celere o lento; ed a quale massimo e minimo resista.

5. Se sia sporificante o meno, e nel primo caso, in quale modo avvenga la sporificazione.

6. Quale forma assumano le colonie dei microbi sulle o nelle diverse sostanze nutrienti.

7. Se l' aria (e quindi l' ossigeno) sia necessaria al suo sviluppo, o se non lo sia, o se sia perfino nociva.

---

[1] E ciò, sia osservando il microrganismo direttamente, sia dopo di averlo coltivato nei diversi substrati di nutrizione liquidi e solidi.

8. Se sia cromogeno o meno, e nel caso affermativo, quale colore produca, e in quali condizioni.

9. Se liquefaccia o meno la gelatina.

10. Se dia luogo a sviluppo di gaz.

11. Se produca odori particolari intensi.

12. Come si comporti di fronte alle sostanze coloranti usate in batteriologia.

13. Se si sviluppi nell'organismo vivente (parassita), o nelle sostanze organiche in via di decomposizione (saprofito); ed a quali effetti dia luogo nell'uno e nell'altro caso, sia da sè, sia colla produzione delle ptomaine.

X.

Il microscopio ed il microtomo.

Per lo studio dei microrganismi, di cui abbiamo esposto più sopra le generalità, è mestieri apprendere una tecnica speciale, la quale richiede mezzi, tempo e molta pazienza ed accuratezza.

Diremo ora degli strumenti principali che occorrono per le indagini di questi minimi esseri, della sterilizzazione degli strumenti medesimi, della fabbricazione delle sostanze di nutrizione solide e liquide, delle materie coloranti e dei metodi di colorazione più importanti ed usitati.

Chi ha intenzione di occuparsi di questo nuovo ed importante ramo delle scienze biologiche, ed entra in un gabinetto di batteriologia ben provveduto, per farsi un concetto di quanto possa

occorrergli per i suoi studi, probabilmente dopo di aver preso tutto in esame, ne esce confuso, e forse pensa di abbandonare il progetto. Tutto ciò per l'abbondanza di strumenti grandi e piccoli, di attrezzi d'ogni costo, di vasi d'ogni forma e grandezza, di sostanze coloranti le più svariate che gli capitano sott'occhio. Ma non si devono confondere gli oggetti utili con quelli assolutamente necessarii e indispensabili. Chi ha passione per la scienza che professa, e chi può spendere per il proprio gabinetto, non finisce mai di migliorarlo. Noi qui ci immaginiamo di essere in un gabinetto batteriologico modesto, ma però tale da presentare il necessario per le comuni ricerche batteriologiche a scopo diagnostico, e ricorderemo riassuntivamente quanto in esso si trova. Se noi vogliamo che la batteriologia, l'indispensabile sussidiaria della medicina e della veterinaria, prenda diffusione nella sua parte pratica, se desideriamo di vedere istituiti dei laboratori batteriologici almeno qua e là nelle città maggiori, dobbiamo procurare che le spese sieno limitate, lasciando in disparte tutto ciò che è lusso, ossia non necessario.

Piccoli strumenti. — Fra gli strumenti di poco costo e che pure occorrono per gli studi microscopici del nostro ramo, ricordiamo i rasoi, i pistorini, le forbici, gli aghi, le lancette, le pinzette, le spatoline, i porta oggetti, i copri oggetti, i vetri da orologio, le pipette di diversa grandezza, e talune graduate, i tubi graduati, le capsule di porcellana. Per la conservazione degli oggetti di vetro e porcellana non occorrono cure speciali,

per quelli metallici è mestieri vedere che non irruginiscano; si terranno quindi sempre bene puliti ed asciutti, eventualmente unti con vaselina, olio di ossa o di mandorle. Tutti questi oggetti sono così comuni nei diversi gabinetti di istologia e di anatomia, che sono a tutti noti, e non hanno quindi bisogno di una descrizione.

Grandi strumenti. — Fra gli strumenti di costo ricordiamo subito il microscopio, benemerito dell'attuale progresso quanto la stampa, il vapore ed il telegrafo. Quando lo studioso ha preso confidenza di questo strumento, esso gli diventa un amico fedele, che non mente mai, che mette in chiaro le cose, ingrandendole, senza svisarle, che tramuta il mondo degli invisibili in un mondo visibile, che fa vedere le differenze fra individui, ed individui e fra le diverse loro parti; che insomma conduce a quei risultati che in questi ultimi anni hanno fatto tanto progredire le scienze biologiche. Il microscopio ha tramutato la medicina antica piena di fantasmagorie in una scienza positiva.

Varie ditte sono oggi in grado di fornire al batteriologo dei buoni microscopi; facciamo menzione delle migliori, che sono quelle di Hartnack, Koritska, Meyer, Nachet, Reichert, Seibert e Zeiss. I microscopi di Zeiss sono, a nostro avviso, fra i migliori, specialmente se s'impiegano le lenti apocromatiche. Le solite lenti di forte ingrandimento hanno il difetto di dare un'immagine non perfettamente netta, perchè la correzione cromatica non si compie egualmente bene in tutte le loro parti, ed il difetto aumenta negli ingrandi-

menti ottenuti cogli oculari. Ora Abbe e Zeiss costruirono con una sostanza vitrea di loro invenzione degli obbiettivi, i quali essendo perfettamente acromatici superano le lenti finora usate. Questi obbiettivi perfezionati sono stati chiamati apocromatici e rendono al batteriologo utilissimi servigi.

Affinchè un microscopio corrisponda alle esigenze del batteriologo, occorre ch' esso possieda i seguenti requisiti:

1. Deve essere capace di dare un forte ingrandimento (di mille e più diametri), perchè gli oggetti da osservarsi sono piccolissimi.

2. Gli obbiettivi devono essere acromatici.

3. Deve mostrare i contorni netti, bene marcati, deve cioè bene definirli.

4. È necessario che ne risolva i dettagli, ossia deve possedere forza penetrante o potere risolutivo.

Per ottenere tutto ciò si ricorre all'immersione omogenea ed all'apparecchio condensatore della luce di Abbe. La prima cerca di ovviare agli effetti dannosi che produce l'aria interposta fra l'oggetto da osservarsi e la prima lente dell'obbiettivo, sostituendo all'aria, che ha un debole indice di rifrazione, un oggetto (olio di legno di cedro), il cui indice di rifrazione è pressochè uguale a quello del vetro. Il secondo, o apparecchio di Abbe, gettando un forte cono di luce sull'oggetto, fa risaltare le particelle colorate del preparato, quindi i nuclei ed i microbi, a spese della struttura istologica che rimane in retroscena.

Un altro strumento assai importante è il microtomo. Esso con l'attuale indirizzo degli studi biologici si è reso necessario oltre che nei gabinetti di batteriologia anche in quelli di istologia e di embriologia. Con esso si possono sezionare organismi interi (acari) o, ciò che è più frequente, parti di essi, ed ottenerne sezioni di una finezza sorprendente, il cui spessore noi possiamo far variare a volontà da millim. 0,015 a millimetri 0,001.

In batteriologia noi vogliamo sovente constatare non soltanto se in un dato pezzo di organo (milza, fegato, polmone) esistano microbi, ma ci interessa di più di vedere come sieno in esso distribuiti. Per ciò fare è necessario indurire il pezzo da esaminare, e dopo l'inclusione in paraffina o in celloidina a mezzo del microtomo se ne fanno le sezioni, che saranno più o meno sottili a seconda dei casi. In generale le sezioni che si devono colorire, si procura di ottenerle assai esigue, giacchè si tratta di mettere in evidenza in esse degli organismi piccolissimi, i quali trovandosi in mezzo agli elementi istologici possono facilmente dai medesimi essere nascosti.

Attualmente si trovano in vendita parecchi microtomi, di cui i migliori sono: quello inventato da Thoma e costruito da Jung, quello di Schanze, di Katsch, di Reichert, di Meier, di Lond, di Becker. Noi possediamo quest'ultimo, che è di recentissima costruzione e che ci fa buoni servigi. È peraltro nostra convinzione che la finezza dei preparati dipenda non soltanto dall'eccellenza del microtomo, ma eziandio, ed in buona parte, dal-

l'esperienza del preparatore, dal grado di indurimento del preparato e dell' affilamento esatto del coltello.

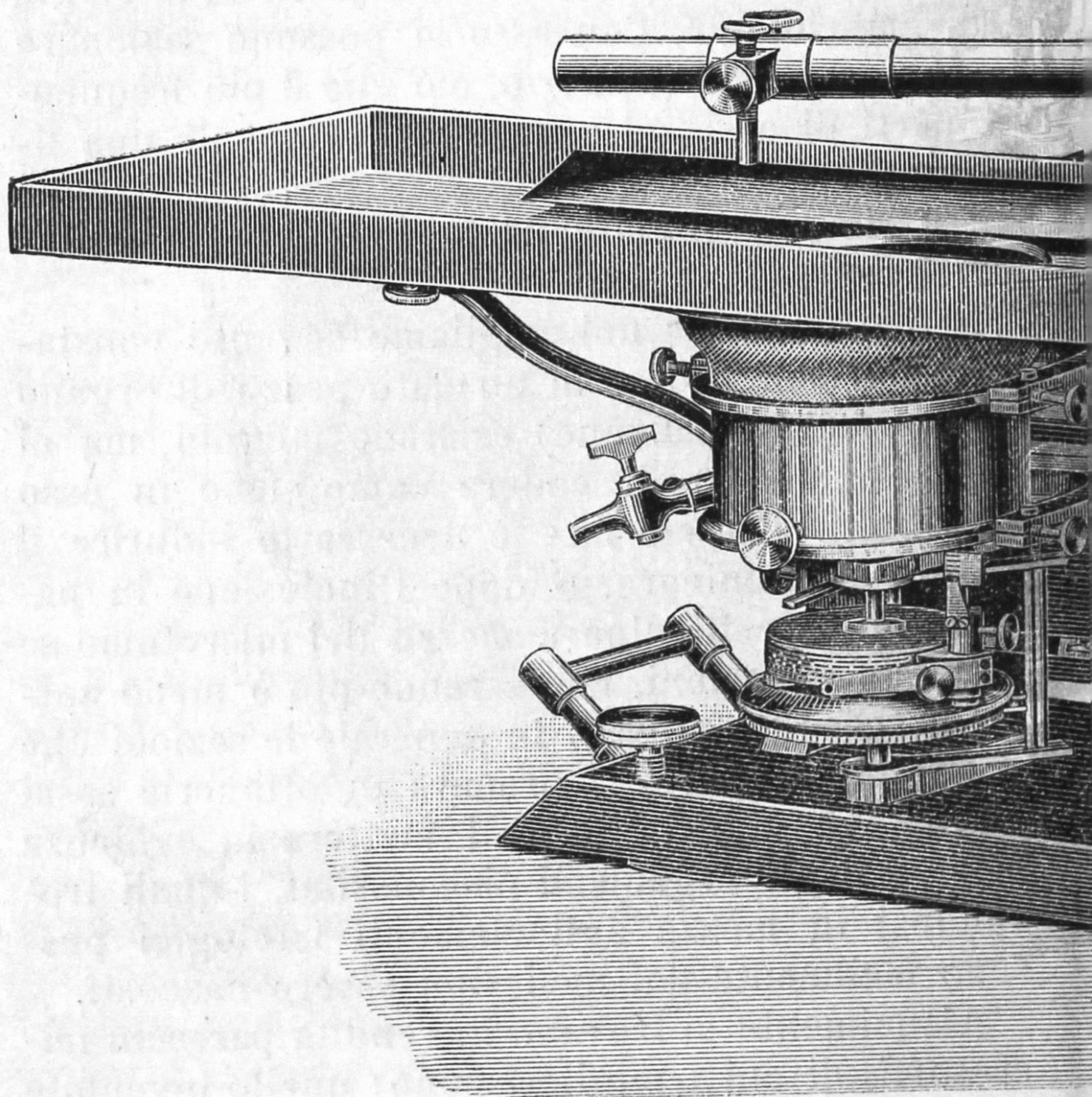
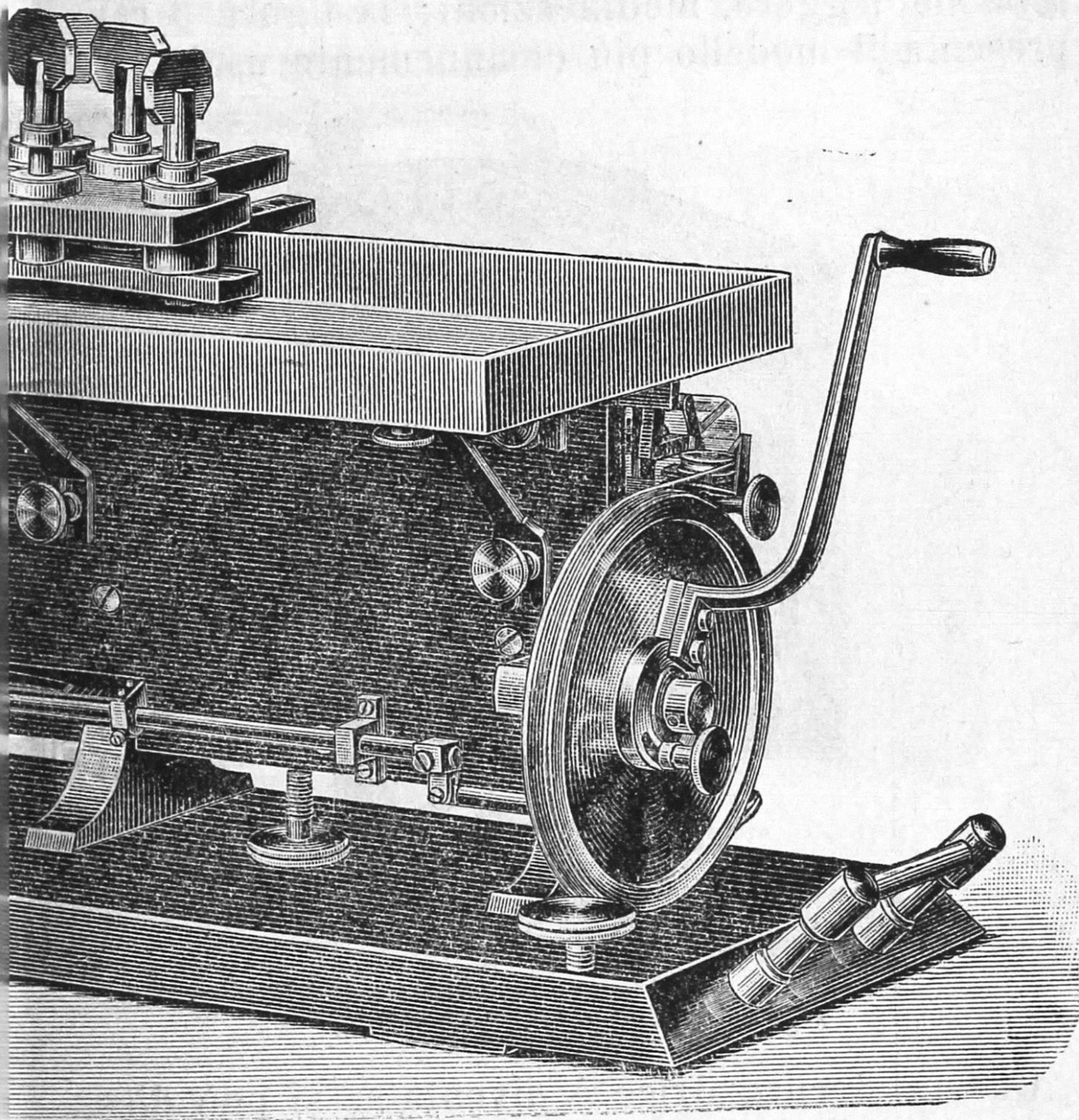



Fig. 2. — M

XI.

La sterilizzazione.

Abbiamo parlato finora di strumenti che pur appartenendo alla batteriologia sono in pari tempo della tecnica microscopica in generale.

Ora veniamo a quelli che spettano esclusivamente alla scienza che trattiamo. Tali sono quelli che servono alla sterilizzazione degli strumenti,

...mo Becker.

alla preparazione delle sostanze nutritive, alla coltivazione dei microbi fuori dell'organismo.

I corpi — specialmente oggetti di vetro: come tubi d'assaggio, vetrini da orologio, porta oggetti, lastre per piastre, bicchieri, matracci, pipette — che possono essere spinti ad una temperatura

secca piuttosto elevata (150°), vengono sterilizzati con la stufa sterilizzatrice a doppia parete del Koch. Questa ha subíto recentemente parecchie, sebbene leggere, modificazioni; la figura 3 rappresenta il modello più comunemente usato.

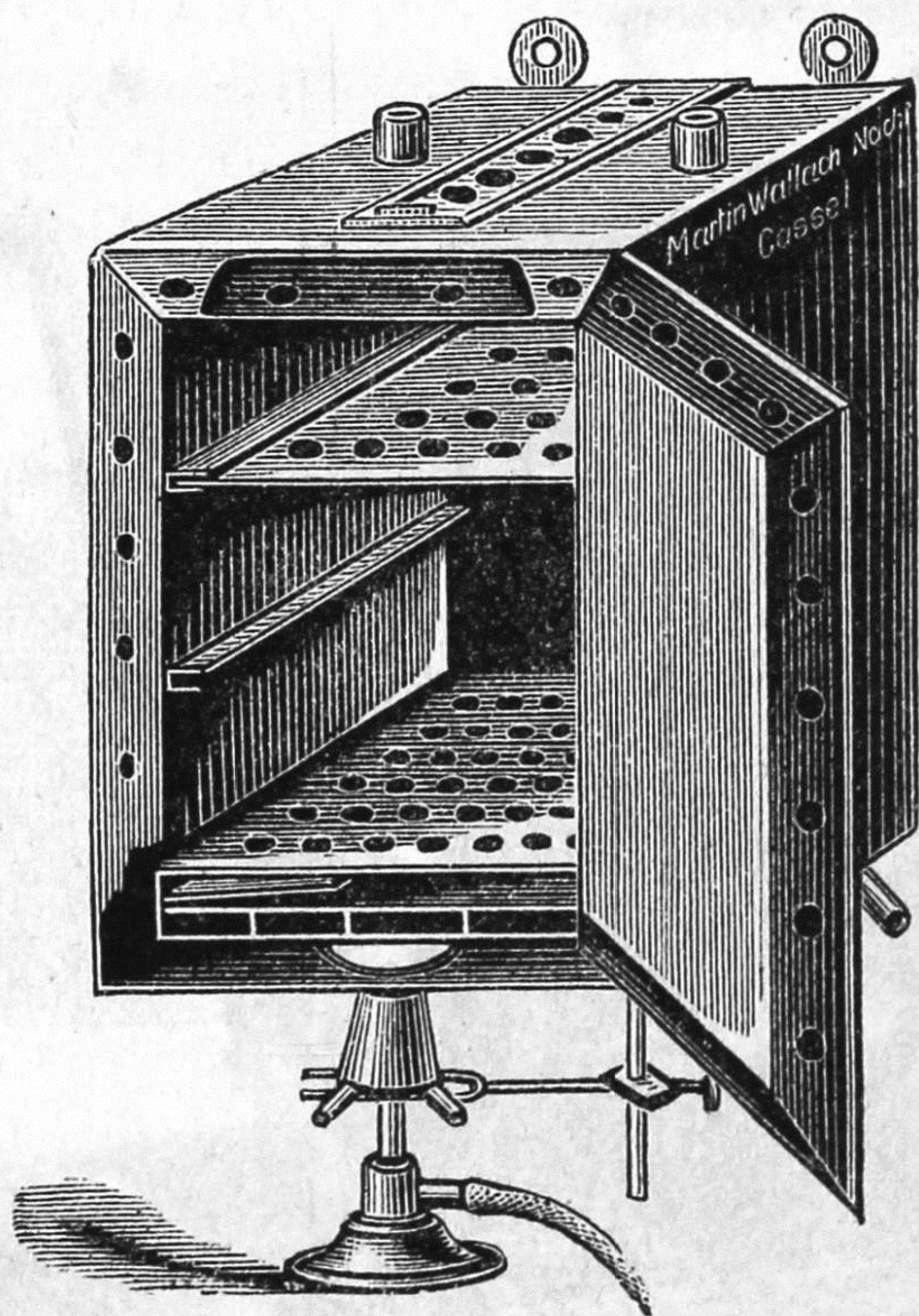



Fig. 3. — Sterilizzatrice a secco.

Questa sterilizzatrice è divontata, si può dire, indispensabile, poichè col suo mezzo si può sterilizzare in un paio d'ore un numero di piccoli oggotti molto grande. Avvertiamo però che d'ordinario conviene usarla, accendendo il fornello sotto di essa, alla sera, perchè di giorno il gaz ha difficilmente la pressione sufficiente per innalzare la temperatura al grado voluto. Quando

non si tratta di sterilizzare oggetti di vetro, oppure di porcellana o di metallo — come forbici, pinzette, pisturini — o la siringa di Pravaz modificata dal Koch, ma bensì invece tubi o tappi di gomma, oppure sostanze che debbono servire

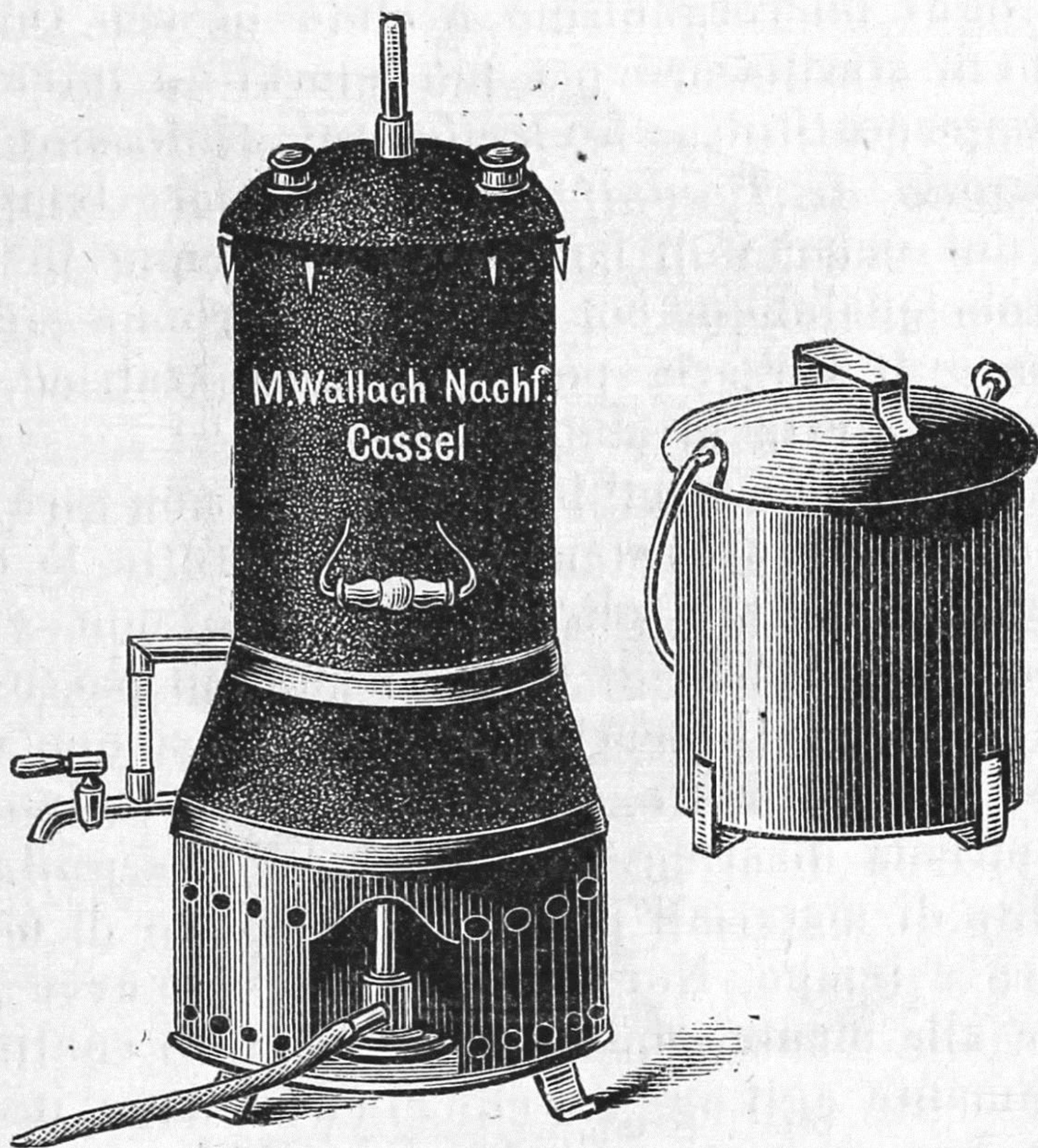



Fig. 4. — Sterilizzatrice a vapore.

da substrato per la coltura dei microbi, è necessario di ricorrere all'apparecchio di sterilizzazione a vapore dello stesso Koch (fig. 4).

In questo caso i corpi da sterilizzare non si trovano, come nel caso precedente, in un'aria secca, la cui temperatura sale fino 130-150 gradi ma invece sono circondati dal vapor acqueo a 100°.

Siccome questa temperatura non è sempre sufficiente per produrre una sterilizzazione sicura, così è talvolta necessario di ripetere l'operazione per 3-4 giorni di seguito, a circa 24 ore di distanza una volta dall'altra, per essere ben certi che ogni microrganismo è stato ucciso. Questo modo di sterilizzare per più giorni ad intervalli di tempo costituisce la *sterilizzazione discontinua a metodo di Tyndall.* Per risparmiare tempo e gaz noi usiamo di far scaldare l'acqua in una pentola qualunque col mezzo del carbone o della legna e di versarla poi nella sterilizzatrice, appena è entrata in ebollizione.

A chi si dà a studi batteriologici, non sarà mai raccomandato abbastanza di avere tutte le cure a ben sterilizzare gli strumenti, se non vuole correre il pericolo di trovarsi ad ogni passo davanti a risultati incerti od erronei, e se non vuol vedere distrutta l'opera sua in breve tempo. La più piccola disattenzione più volte è seguita da perdite di materiali preparati al prezzo di molto lavoro e tempo. Noi dobbiamo sempre aver presente alla mente, che siamo immersi di continuo, unitamente agli oggetti che ci circondano, in una atmosfera ricca di microbi, i quali si vanno depositando ad ogni istante sul nostro corpo e su quanto rimane in contatto dell'aria. Dobbiamo tener presente di più, che oltre alle forme vegetative vi sono innumerevoli spore, la cui resistenza agli agenti fisici o chimici ci è nota. Aggiungiamo ancora, che, siccome le sterilizzazioni costituiscono operazioni se non difficili almeno delicate, è utile di farle da sè, cioè non di affi-

darle al personale di servizio, che spesse volte per far presto omette dei dettagli di tecnica, dai quali non si può prescindere, e comunque procede in modo grossolano ben diversamente da colui che è colto in argomento ed ha fatto una pratica lunga ed esatta.

Gli oggetti di vetro che si mettono nella sterilizzatrice a secco si lavano di solito precedentemente con acqua, poi con sublimato corrosivo al 1 $^0/_{00}$, quindi con alcool. Se si tratta di tubi d'assaggio, appena è da essi scolato l'alcool, si chiudono con cotone cardato idrofilo. Per averli asciutti in breve tempo, noi li collochiamo aperti e capovolti nelle cestine, e queste le poniamo

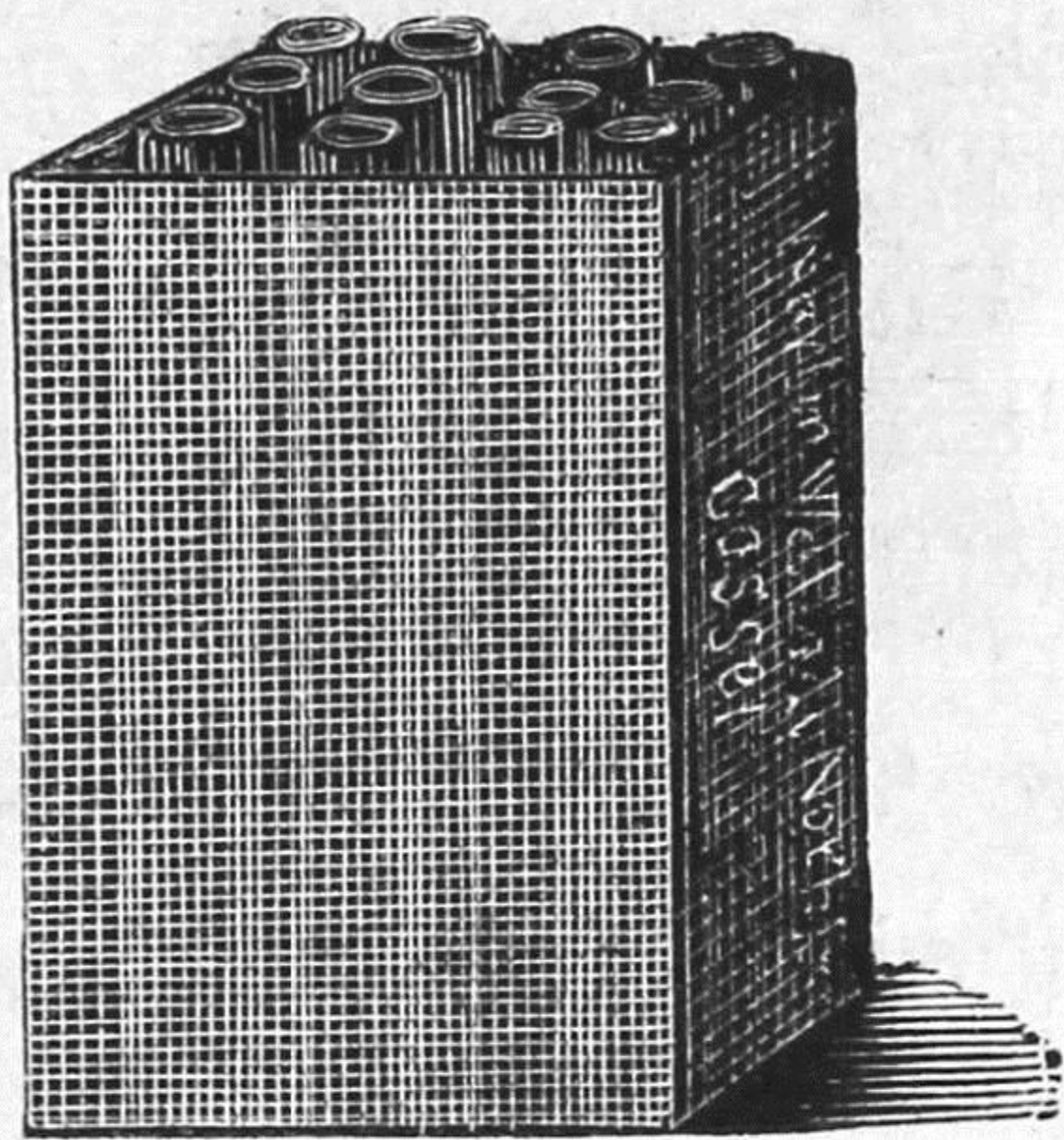



Fig. 5. — Cestina in filo di ferro.

nella sterilizzatrice a secco che accendiamo per pochi istanti. I tappi devono essere tali da chiudere esattamente, non devono però nè scorrere troppo facilmente, nè essere troppo compressi. I tubi d'assaggio nella sterilizzatrice si collocano in cestine apposite (fig. 5) e sempre si deve aver cura che il cotone non venga in contatto diretto

colle pareti della stufa, poichè in questo caso durante la sterilizzazione si brucierebbe perdendo ogni consistenza. Di solito si suol ritenere che i tubi d'assaggio hanno ricevuto una sterilizzazione giusta, quando il cotone ha assunto una tinta leggermente rossastra. Vi è chi ha l'abitudine di sterilizzare separatamente i tubi d'assaggio, od i matracci, e il cotone; procedendo in questo modo si rende l'operazione più lunga senza un vantaggio apprezzabile. Le lastre di vetro destinate alle colture dei microbi nei cristallizza-

Fig. 6. — Cassetta per sterilizzare le lastre di vetro.

tori vengono sterilizzate in una scatola metallica (fig. 6) chiusa, dalla quale si levano mano mano che si adoperano e previa sterilizzazione delle estremità delle dita mediante il sublimato corrosivo. I vetri da orologio, i porta oggetti ed altre cose minute si pongono in una campana di vetro lavata con sublimato corrosivo e quindi vengono posti nella sterilizzatrice. Anche i ferri si mettono di solito in una scatola apposita (fig. 7).

Accenniamo ancora alla siringa di Pravaz modificata dal Koch; e ricordiamo che quando essa

viene sterilizzata nella stufa ad aria secca, si deve avere l'avvertenza di non lasciare lo stantuffo in fondo al cilindro, ma è necessario di ritirarlo a metà; altrimenti con frequenza si attacca e riesce poi difficile il muoverlo. Questa siringa preparata come si è detto e precedentemente ben lavata si suole chiuderla in un tubo d'assaggio, lasciando uscire una parte del manico e chiudendo tutto all'ingiro con tappo di cotone. In questa guisa si ha il vantaggio che anche levata dalla stufa si conserva sterile finchè venga estratta dal tubo che la contiene. Attualmente si trovano in commercio diverse altre siringhe, fra le mi-

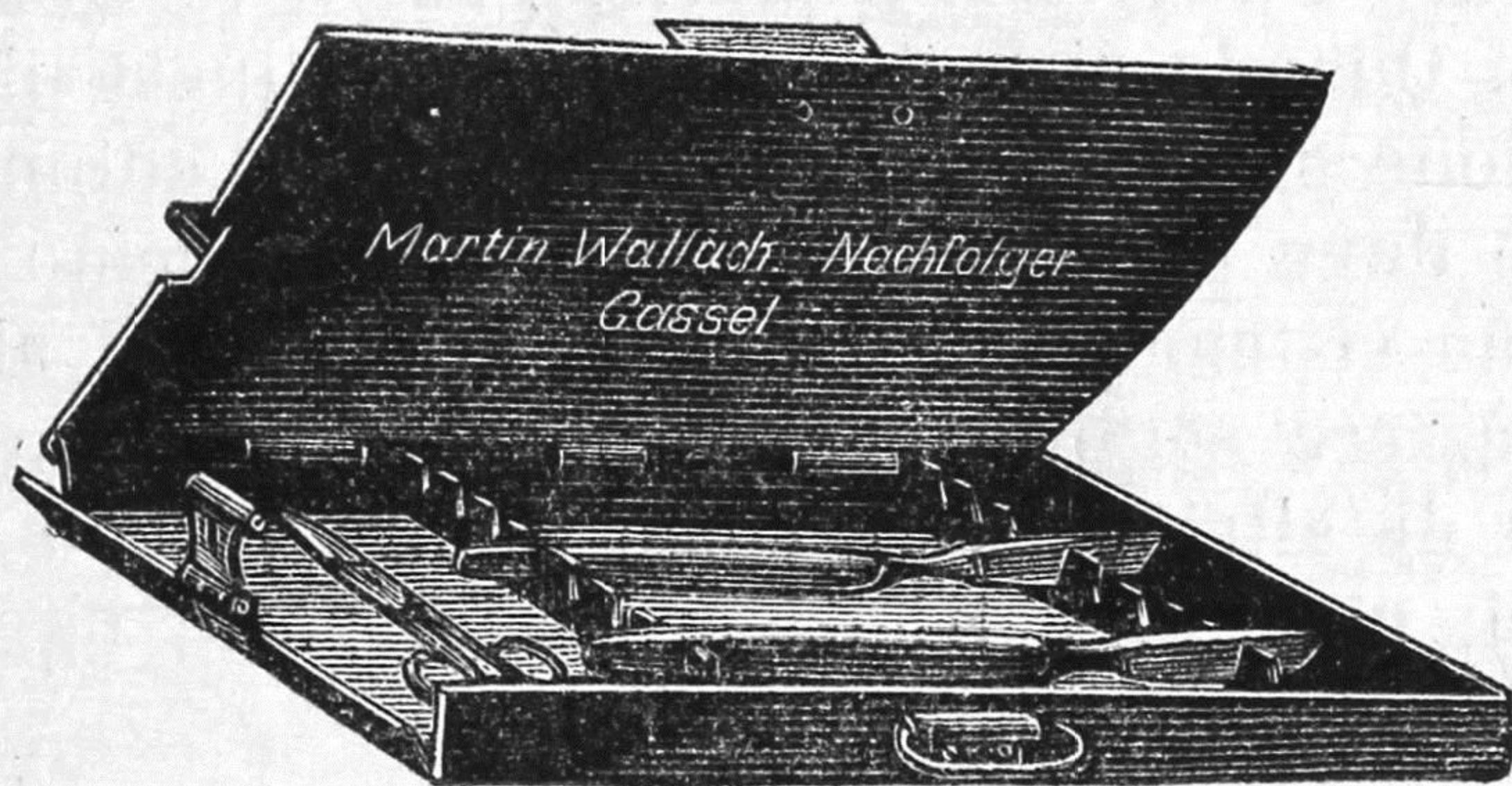



Fig. 7. — Cassetta per sterilizzare i ferri.

gliori ricordiamo quelle di Tursini, Petri e Tavel; per la loro sterilizzazione bisogna regolarsi a seconda dei casi.

In pratica accade spesso tanto in gabinetto, quanto fuori, che occorre un oggetto sterilizzato, e non lo si ha pronto al momento; si ricorre allora alla fiamma diretta del gaz o meglio di una lampada ad alcool. Se si tratta, per es., di una lastra di vetro, la si lava con sublimato corro-

sivo al 1 °/₀₀, quindi con alcool, poi la si espone alla fiamma tenendola un po' discosta perchè non si riscaldi con troppa rapidità, e quando è bene asciugata e quindi anche calda, la si toglie allontanandola lentamente; se la si scosta con un movimento brusco, si rompe con facilità per il rapido squilibrio di temperatura, e la si colloca sul banchetto nelle campane. I tubi d'assaggio si possono sterilizzare nello stesso modo; lavati con sublimato e poi con alcool, si chiudono con tappo di cotone, che si caccia nell'interno del tubo in guisa che non sporga affatto all'esterno, quindi si riscaldano alla fiamma ad elevata temperatura i due terzi posteriori, poi il terzo anteriore. Quando si mette alla fiamma quest'ultima porzione si deve tenere d'occhio il cotone, il quale deve pure venire sterilizzato. Questo medesimo sistema della lampada a gaz o ad alcool può essere seguito per sterilizzare un gran numero di altri oggetti, come a dire piccoli matracci, pipette, vetri da orologio, porta oggetti, capsule di porcellana ed altri.

La siringa del Koch può essere resa sterile bollendovi dentro l'acqua. Il procedimento è semplicissimo; quando è riempiuta d'acqua, la si espone alla fiamma ed il vapore esce attraverso l'ago; appena vuotata la si torna a riempire e si ripete l'operazione per 2-3 volte di seguito.

Presto sterilizzate sono le camere umide (fig. 8) che si usano per le colture sulle piastre di gelatina. Si lavano i due cristallizzatori, con sublimato corrosivo nella solita soluzione; sul fondo si colloca un disco di carta da filtro inzuppato

dello stesso liquido; quindi lo sgabello di vetro, esso pure lavato in sublimato e coperto con carta da filtro impregnata come la prima. Finalmente sopra di esso si pone la lastra di vetro già sterilizzata in stufa oppure estemporaneamente alla

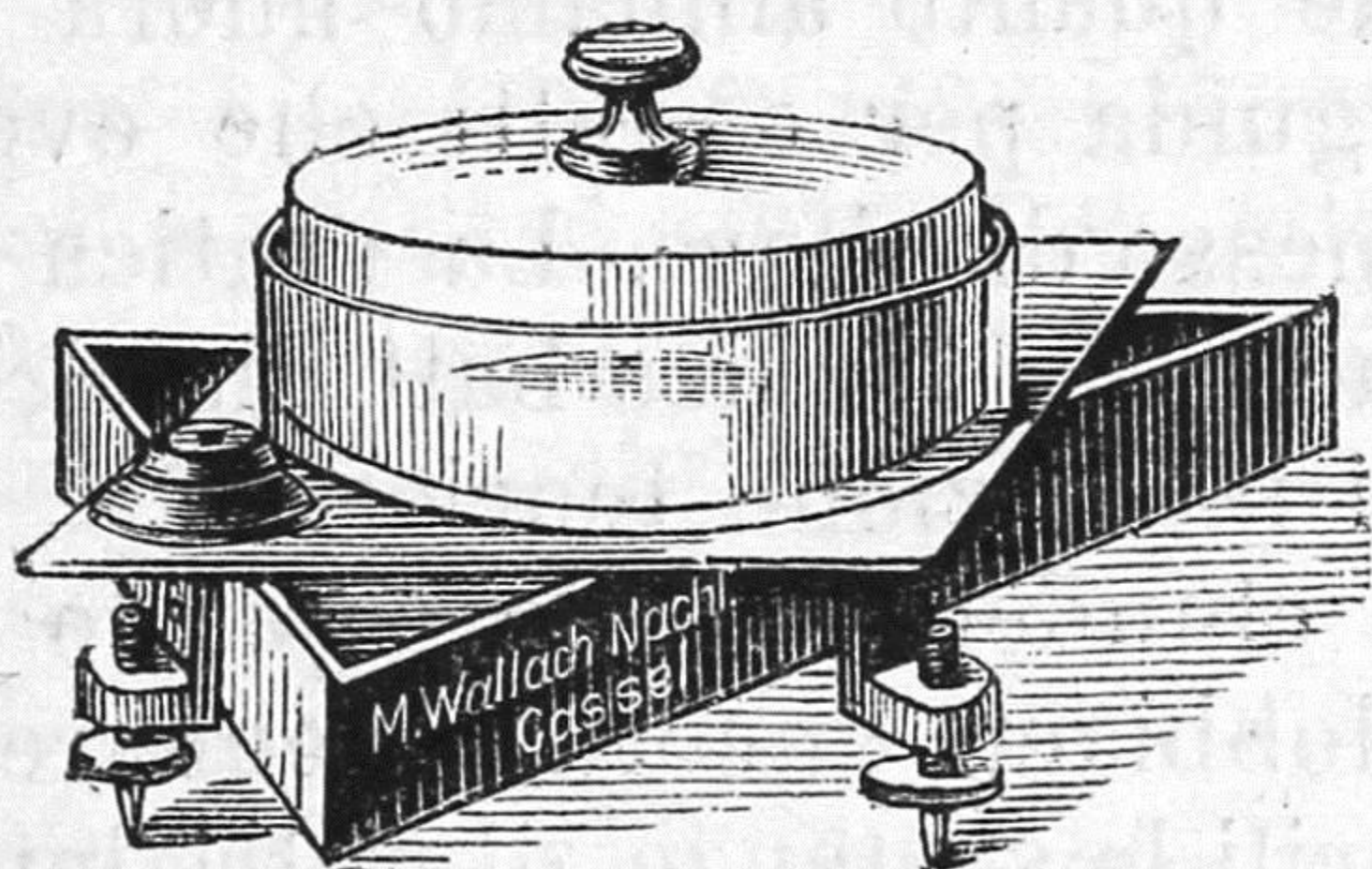



Fig. 8. — Camere umide.

fiamma. In questo modo noi abbiamo preparato un ambiente sterile e pronto a ricevere la gelatina disseminata di microbi che si svilupperanno in colture nette.

I ferri, come bistorini, forbici, pinzette, lancette si possono sterilizzare agevolmente tenendoli immersi in un recipiente, il quale contenga dell'acido fenico al 5 $^0/_0$. In operazioni delicate però si suole passarli alla fiamma e portarli ad un grado di calore piuttosto elevato. Nei laboratori di batteriologia è necessario di possedere un certo numero di questi strumenti, poichè facilmente si guastano.

Il coltello da tagliare le patate si porta volta per volta prima di adoperarlo sopra la fiamma. In generale si ritiene, che esso sia sterilizzato per bene, quando avvicinato alle guancie irradia un calore sensibile.

L'ago di platino o l'ansa si sterilizzano mano mano che si adoperano arroventandoli alla lampada a gaz o ad alcool.

Senza entrare in ulteriori dettagli sulla sterilizzazione degli oggetti a secco, aggiungiamo soltanto che quanto abbiamo finora detto, deve servire di guida per oggetti che eventualmente abbiamo omesso di citare. La pratica del resto in questo ramo della tecnica batteriologica vale più di qualsiasi indicazione teorica.

Prima di chiudere questo capitolo delle sterilizzazioni dobbiamo ancora accennare al modo di rendere sterili le sostanze di nutrizione, che debbono servire alle colture dei microbi, e le quali non possono essere portate a temperatura elevata perchè ne soffrirebbero. Intendiamo alludere specialmente ai brodi, alle gelatine comuni e ai sieri di sangue.

È già noto dagli studi del Pasteur che la temperatura di ebollizione dell'acqua, ossia di 100°, non è sufficiente per distruggere alcuni germi. Quando noi dunque collochiamo brodi o gelatine a sterilizzare nella stufa a vapore (fig. 4), benchè essi raggiungano i 100°, non siamo sicuri che sieno privi di germi viventi, e quindi non possiamo ritenerli sterili. Abbiamo già osservato che oltre alle forme vegetative, le quali facilmente periscono in presenza di un calore anche moderato, di 50° circa, vi sono le spore o forme di resistenza, che possono resistere a temperature di 110°-120°. Ebbene mentre assoggettando le sostanze accennate all'azione del vapore acqueo a 100°, siamo sicuri di uccidere le prime forme ri-

cordate, siamo d'altro canto convinti, perchè le prove ce lo attestano, che una tale temperatura non ha che di rado azione distruttrice sulle seconde.

In questi casi per giungere ad ottenere una sterilizzazione sicura, si ricorre al *riscaldamento discontinuo*, proposto per la prima volta dal Tyndall. Questo metodo è un po' lungo, perchè esige qualche giorno, ma riesce molto efficace, e consiste nel riscaldare fin verso i 100° le sostanze che abbiamo ora menzionate per un periodo di 3 a 5 giorni durante un'ora a un'ora e mezzo al giorno, e alla distanza di 18-24 ore una volta dall'altra; la pratica insegna che tre giorni bastano. Il metodo è appoggiato alla resistenza diversa delle forme, come abbiamo già visto, e alla successiva trasformazione degli organi di resistenza (spore) in forme vegetative. Il primo giorno che si espone la sostanza al calore della stufa a vapore si ha la distruzione di tutte le forme vegetative; il secondo giorno si distruggono quelle provenienti dalle spore che hanno resistito e germogliando sono passate al loro completo sviluppo; successivamente vengono distrutte le altre che si fossero sviluppate più tardi.

Per la sterilizzazione del siero di sangue si ricorre al riscaldamento discontinuo; ma siccome la temperatura non deve salire oltre i 60°, perchè il siero si consoliderebbe, e presto dopo i 70° si farebbe anche torbido, così è necessario continuare l'operazione per 7-8 giorni di seguito, lasciando però fra una volta e l'altra il solito intervallo di 18-24 ore.

Abbiamo visto talvolta sterilizzare le gelatine nutrienti e anche quelle all'agar-agar portandole direttamente alla fiamma di una lampada a gaz o ad alcool fino all'ebullizione, e ripetendo l'operazione per tre giorni di seguito col solito intervallo di tempo. Questo metodo che si sostituirebbe a quello della stufa a vapore non possiamo consigliarlo, poichè se ha il vantaggio talvolta di essere sollecito, ha però lo svantaggio di presentare parecchi inconvenienti. In primo luogo, facendo bollire le gelatine in tal guisa, succede con frequenza che il liquido si alza improvvisamente nel tubo d'assaggio fino a toccare il tappo di cotone, il quale per conseguenza rimane poi attaccato al vetro in modo che soltanto con difficoltà si stacca, e dei filamenti di cotone rimangono quasi sempre aderenti alle pareti del tubo. In secondo luogo, la gelatina che si alza, ancorchè non giunga ad investire il tappo, si porta però sempre ad una certa altezza, e il tubo per il tratto da essa percorso rimane annebbiato e presenta quindi un aspetto non bello. Finalmente dobbiamo aggiungere, che i substrati di cui parliamo perdono troppa acqua e si fanno eccessivamente densi. È bene ancora ricordare che tratto tratto si rompono i tubi d'assaggio, oppure succede che per il rapido formarsi di vapore e per la sua troppa tensione vengono lanciati in aria i tappi e con essi le gelatine; ciò specialmente se sono all'agar-agar.

Questo metodo di sterilizzazione mentre lo sconsigliamo in massima, lo riteniamo però utile e pratico in qualche caso speciale; per es. talvolta

succede che improvvisamente in qualcuna delle gelatine già sterilizzate incomincia ad apparire qualche piccola macchia rappresentante una o più colonie di microbi. In questo caso per non perdere il materiale di nutrizione si ricorre al metodo spiccio della fiamma diretta. Altrettanto dicasi quando si ha un tubo d'assaggio con gelatina e si ha il timore che questa non sia stata sterilizzata a sufficenza, eppure urge adoperarla.

Gli strumenti, che si usano più frequentemente

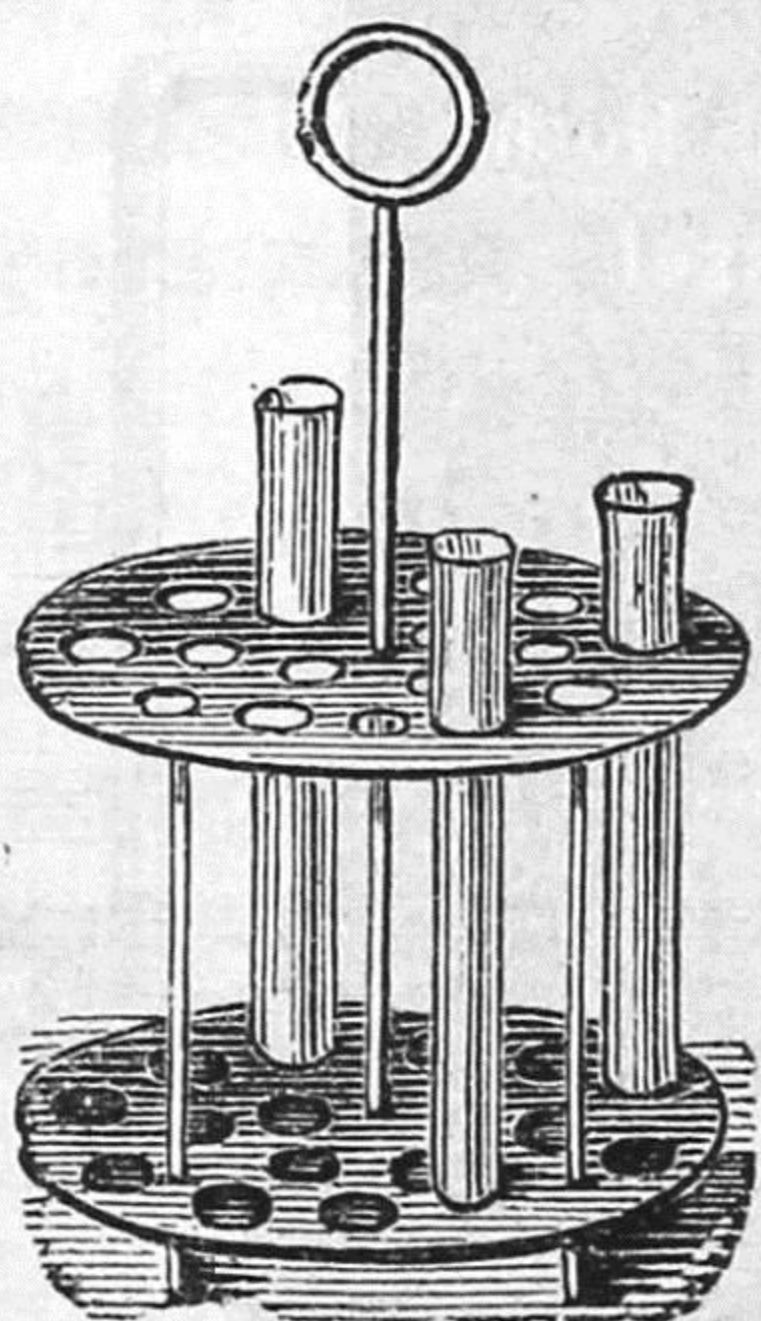



Fig. 9. — Scarabattola.

in batteriologia per la fabbricazione delle sostanze nutritive che devono servire per la coltivazione dei microbi, sono pochi. E primo di tutti e il più importante è la sterilizzatrice a vapore già ricordata (fig. 4), la quale oltre che sterilizzare vari oggetti e le sostanze di nutrizione serve a distruggere, scaldata a 100°, i microrganismi che eventualmente in esse si possono trovare. In essa vengono posti i matracci o le bevute di Erlenmeyer contenenti le gelatine tanto all'agar-agar che le peptonizzate, e così si cucinano. Anche le

patate collocate nel recipiente di latta apposito vengono cotte in questo apparecchio. I diversi brodi di carne di pollo, di bue o di vitello si possono preparare in esso, oppure direttamente in un matraccio posto alla fiamma; in questo caso

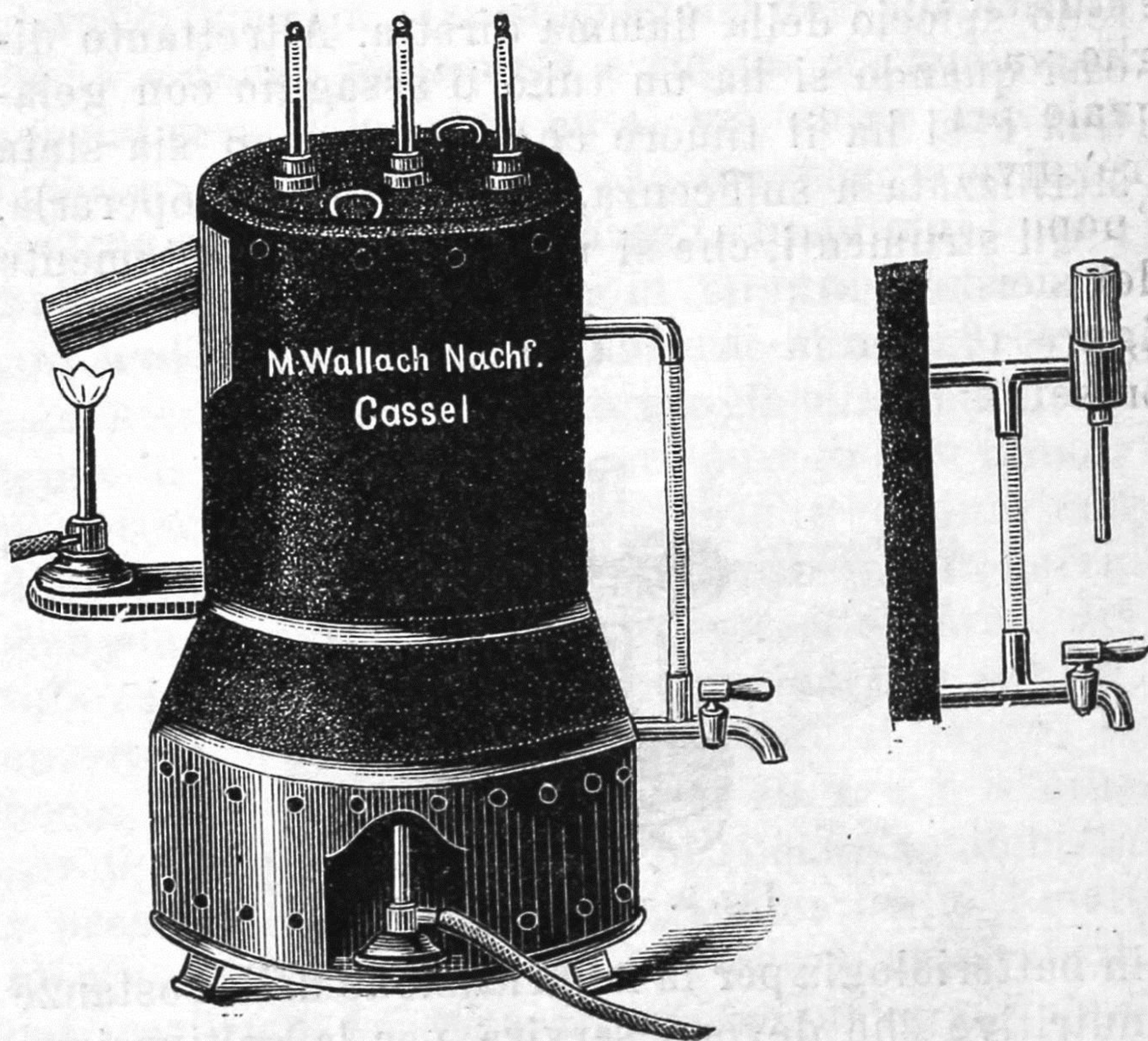



Fig. 10. — Sterilizzatrice del Siero.

s'intende che il vaso viene collocato sopra un trepiedi e deve essere separato dalla fiamma da una reticella metallica a maglia stretta. Meglio ancora, per diminuire il pericolo della sua rottura è di allestire un bagno (vedi fig. 21 o 22) e di collocare in esso il matraccio in modo che sfiori l'acqua. Per preparare il siero di sangue per i diversi scopi di coltura, si può ancora usare la

sterilizzatrice a vapore del Koch, che già conosciamo. Siccome però i sieri devono venire sterilizzati per 7-8 giorni di seguito mediante il riscaldamento discontinuo a una temperatura di 58°-60° per un'ora e mezza o due al giorno, ciò che costituisce un'operazione piuttosto delicata, è meglio valersi di un altro strumento del Koch, il quale per avere tre termometri che pescano in tre diversi ambienti, si presta assai meglio all'uopo. Intendiamo parlare della sterilizzatrice del siero del sangue, la quale, come si vede dalla figura 10, non diversifica di molto da quella rappresentata dalla figura 4.

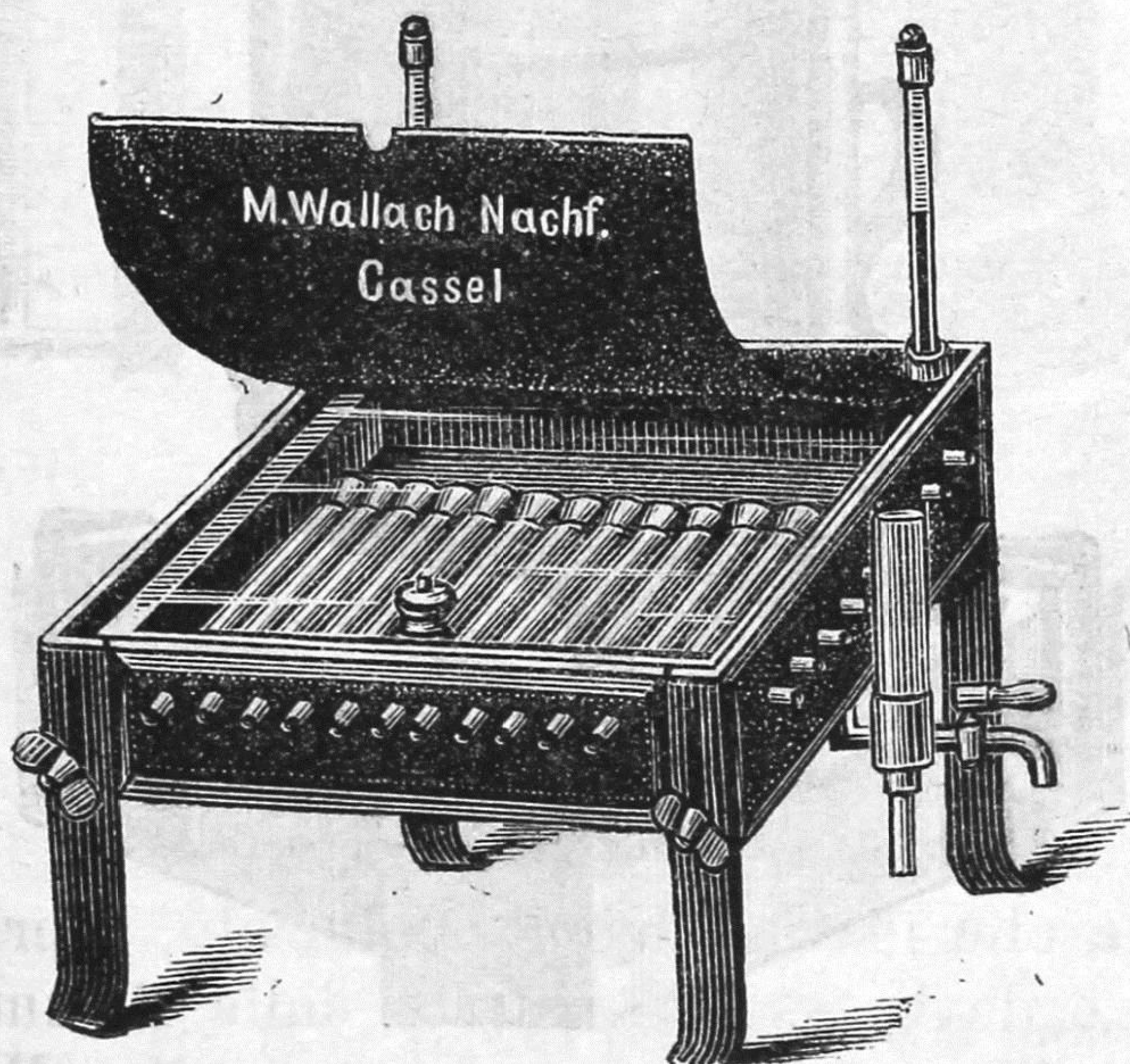



Fig. 11. — Coagulatore del siero di sangue.

È noto che il siero di sangue si adopera anche liquido, cioè tale quale ce lo dà la sterilizzatrice seguendo le regole indicate; ma più comunemente lo si usa consolidato nella forma a becco

di flauto, ciò che si ottiene facendo scaldare gradatamente il tubo d'assaggio collocato in posizione obliqua. La forma precitata a becco di flauto ha il vantaggio di presentare una superficie maggiore allo sviluppo delle colonie.

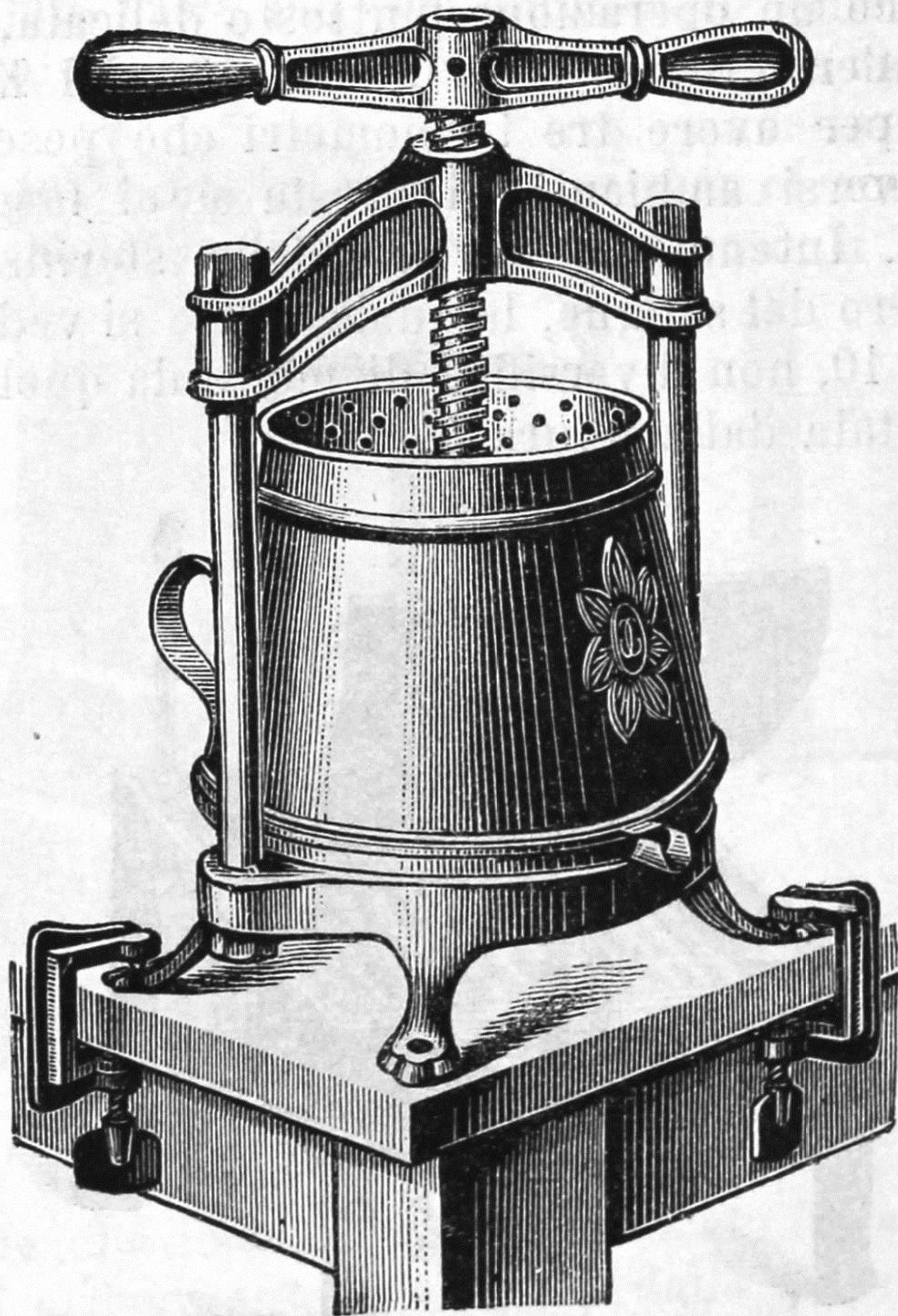



Fig. 12. — Torchio per spremere la carne.

L'operazione suaccennata non è facile quanto può sembrare a prima vista, poichè per poco che si lascia salire la temperatura oltre i 75°, il liquido si coagula non solo, ma perde la sua trasparenza

e non serve più bene. Esponendo alla fiamma diretta i tubi d'assaggio contenenti il siero, difficilmente si riesce ad ottenere una coagulazione soddisfacente.

Per evitare inconvenienti, il Koch ci dà un apparecchio, il coagulatore del siero del sangue (fig. 11), il quale è semplice, poco costoso e assai pratico.

Come lo mostra la figura citata, i tubi contenenti il siero si collocano nella scatola in posi-

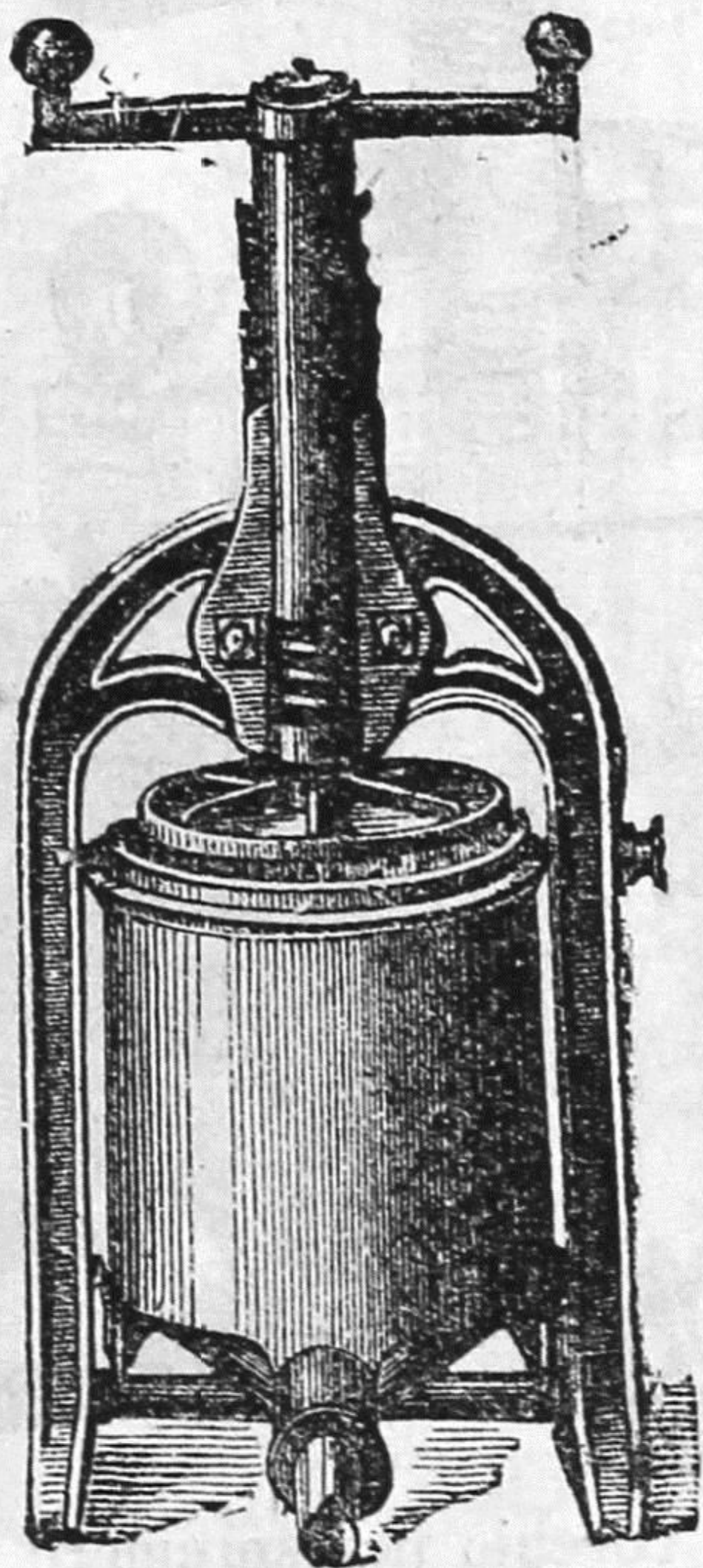



Fig. 13. — Torchio per spremere la carne.

zione obliqua. L'inclinazione può variare, poichè i piedi anteriori sono mobili e si possono allungare od accorciare.

Nella scatola, unitamente alle provette, si suol tenere un termometro per conoscere esattamente

la temperatura dell'ambiente. Chi non ha il coagulatore procura di sostituirlo con una sterilizzatrice a vapore oppure con un termostato (quello di Hueppe fig. 16) od in altro modo ancora. Recentemente Lautenschläger ed altri hanno tro-

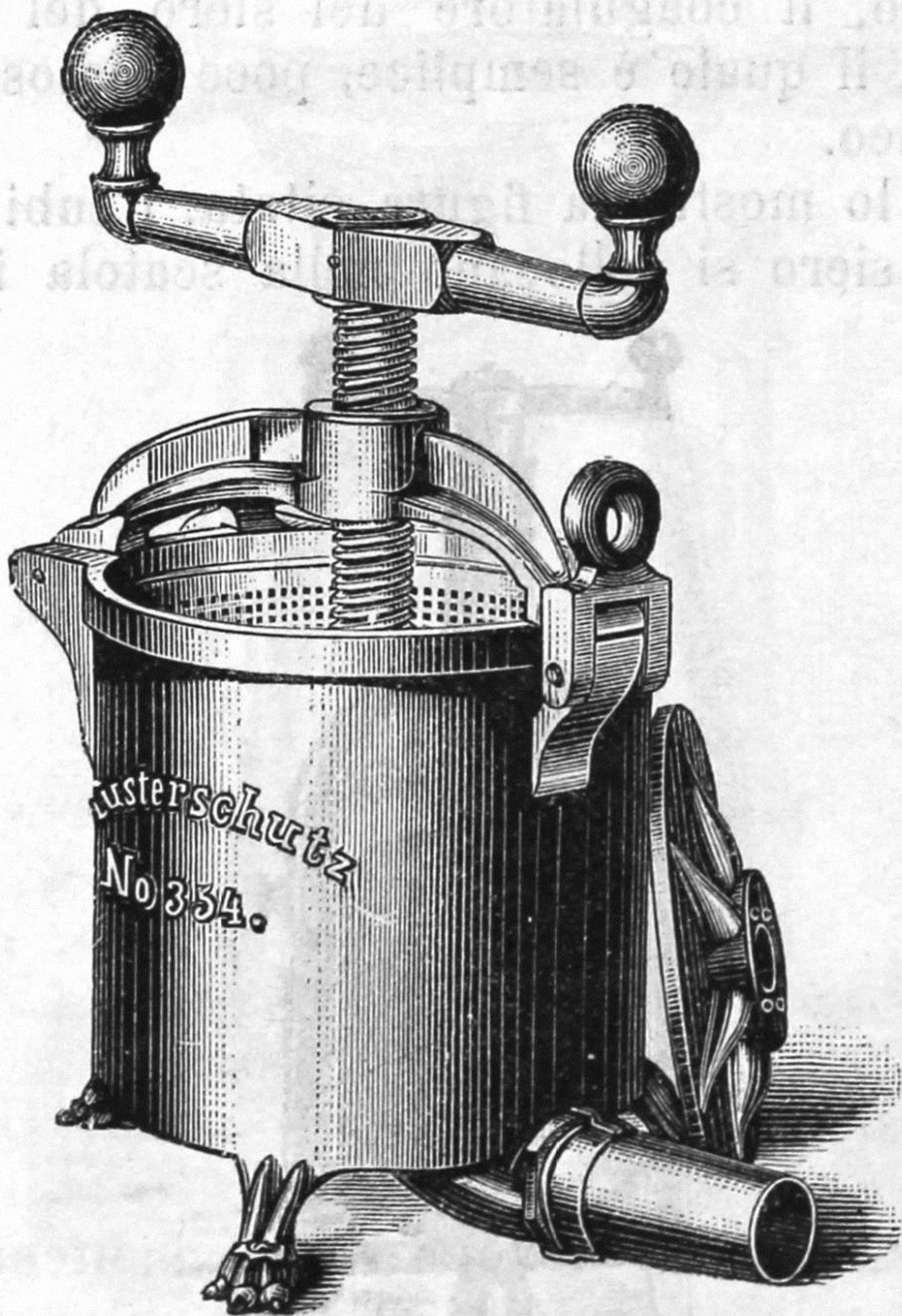



Fig. 14. — Torchio per spremere la carne.

vato il modo di costruire degli apparati a stufa per cultori, i quali servono contemporaneamente a coagulare e a sterilizzare il siero di sangue.

In appendice a questi pochi apparecchi ricordiamo ancora il torchio per spremere la carne (fig. 12, 13, 14, diversi modelli), e l'imbuto a ba-

gnomaria per filtrare a caldo. L'uno e l'altro veramente possono essere sostituiti, ma è però certo che sono assai utili e che in vista del loro poco costo conviene procurarseli.

Coll'imbuto a caldo (fig. 15) si filtrano tutte

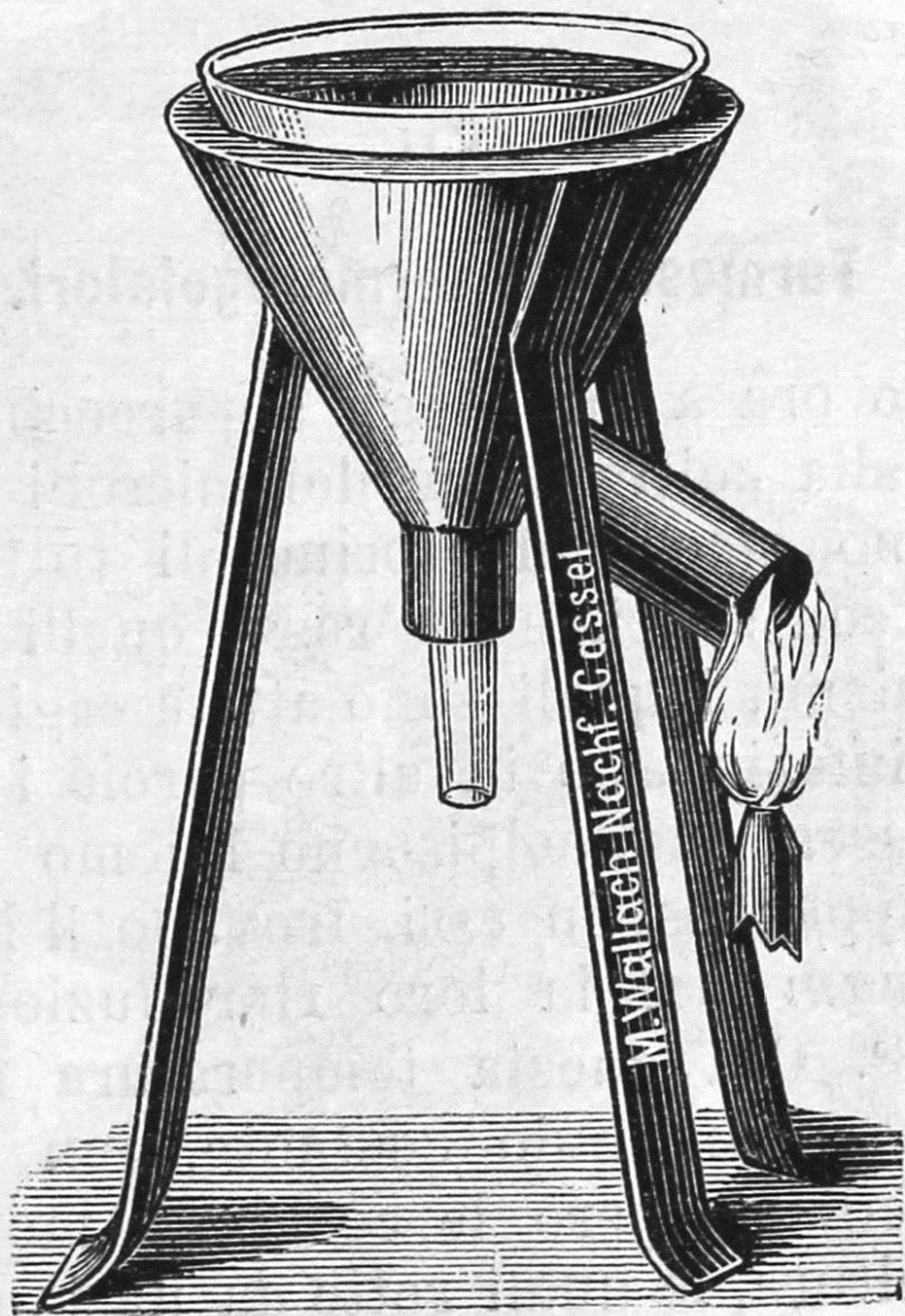



Fig. 15. — Filtro a caldo.

quelle sostanze che devono essere mantenute liquide col calore. Così le gelatine all'agar-agar e le peptonizzate, la paraffina, il balsamo del Canadà, ecc.

Chi manca di filtro apposito, quale è quello rappresentato dalla figura, o di altro ad esso simile, può valersi dell'imbuto comune di vetro che però dopo che è stato riempiuto col liquido da filtrare dovrà essere posto in una sterilizzatrice a vapore,

nella quale l'acqua sia tenuta in ebollizione o pressochè. Il filtro si terrà al disopra coperto per impedire che l'acqua di evaporazione che si condensa nella parte superiore della sterilizzatrice cada nel liquido da filtrare.

XII.

Termostati e termoregolatori.

Venendo ora a dire degli apparecchi che sono destinati alla coltivazione dei microbi fuori dell'organismo, ricordiamo prima di tutto che noi studiamo con speciale interesse quelli fra questi microrganismi, i quali sono atti a cagionare malattie da infezione, o in altre parole i patogeni. Codesti esseri che colpiscono l'uomo e gli animali sviluppandosi in essi, trovano il loro *punctum optimum* per la loro riproduzione rapida sui 35°-38°. Ora questa temperatura nei nostri paesi, almeno in grado costante, non l'abbiamo mai. Possediamo però le cosidette incubatrici o stufe di coltura, le quali rette da un buon termoregolatore dànno sempre un grado di calore fisso o variabile fra limiti strettissimi. Di queste incubatrici oggi se ne vedono in commercio di tutte le grandezze e di tutte le forme; i modelli del Koch, di Arsonval, di Frobenius, di Hueppe sono noti a tutti. Le figure che diamo qui sotto rappresentano tre delle forme più comuni ed anche più usitate (fig. 16, 17 e 18).

Queste stufe, dette anche termostati, si tengono sempre ad una temperatura superiore ai 16°

ed inferiore ai 40°, a meno che non si facciano degli esperimenti speciali circa lo sviluppo del microbio che si studia. Noi abbiamo abitualmente in funzione due termostati, uno dei quali è messo

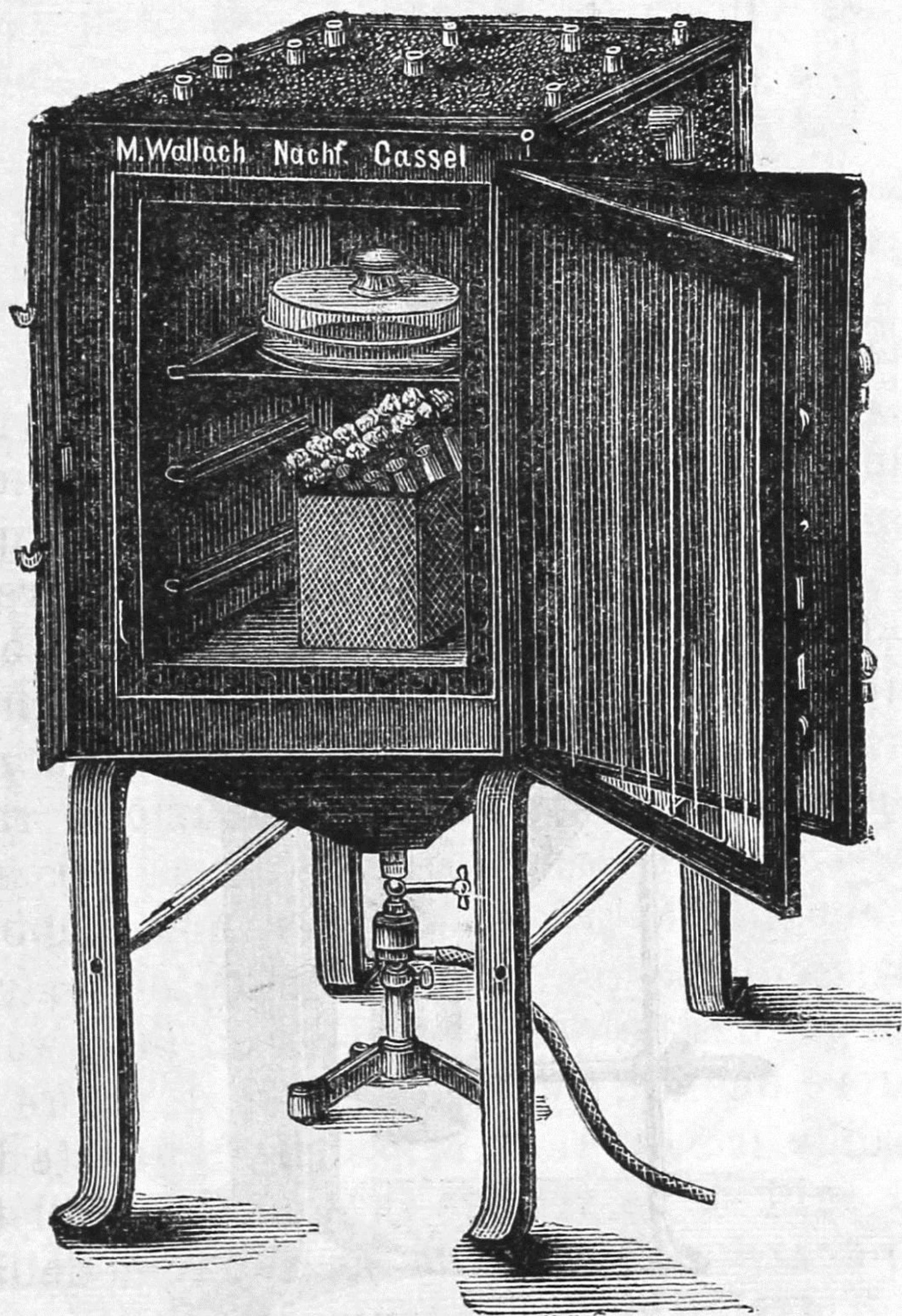



Fig. 16. — Termostato di Hueppe.

alla temperatura di 35°-37°, l'altro di 22°-24°. Nel primo teniamo le culture al siero, in agar, sulle patate o in brodo; nel secondo quelle in gelatina peptonizzata. È quasi inutile di soggiun-

gere che a 35°-37°, lo sviluppo è assai più pronto che a 22°-24°. Nella stagione iemale si è costretti di valersi delle stufe più che durante la state. Nei mesi più caldi una volta disseminate alcune

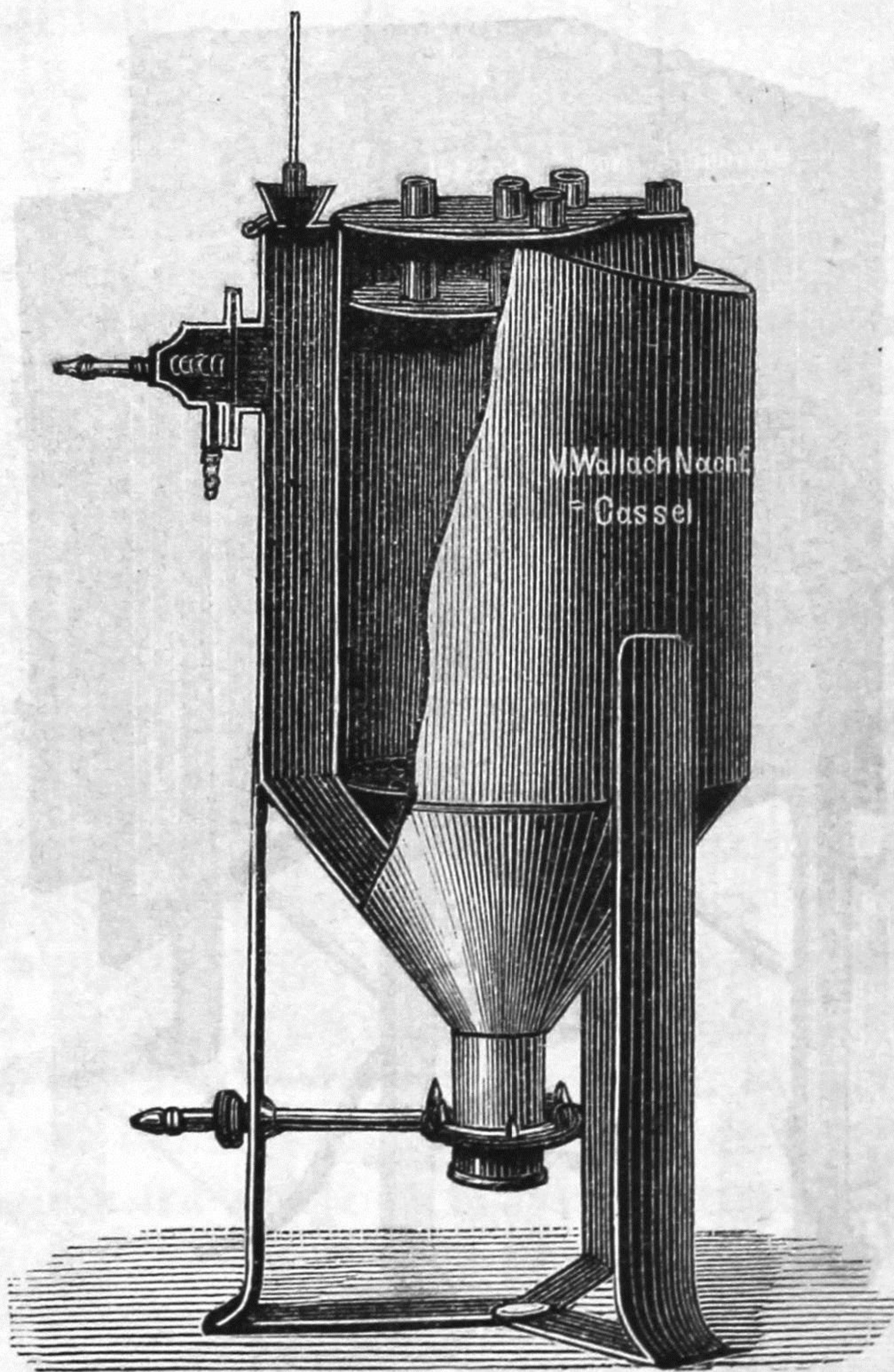



Fig. 17. — Termostato d'Arsonval.

forme tanto in gelatina nei tubi di assaggio, quanto sulle lastre nei cristallizzatori o sulle patate o in altro substrato, esse si sviluppano anche lasciate alla temperatura dell'ambiente in cui si lavora, ciò che invece non accade nei mesi freddi.

Per mantenere la temperatura delle stufe al grado che si desidera, servono, come si è già

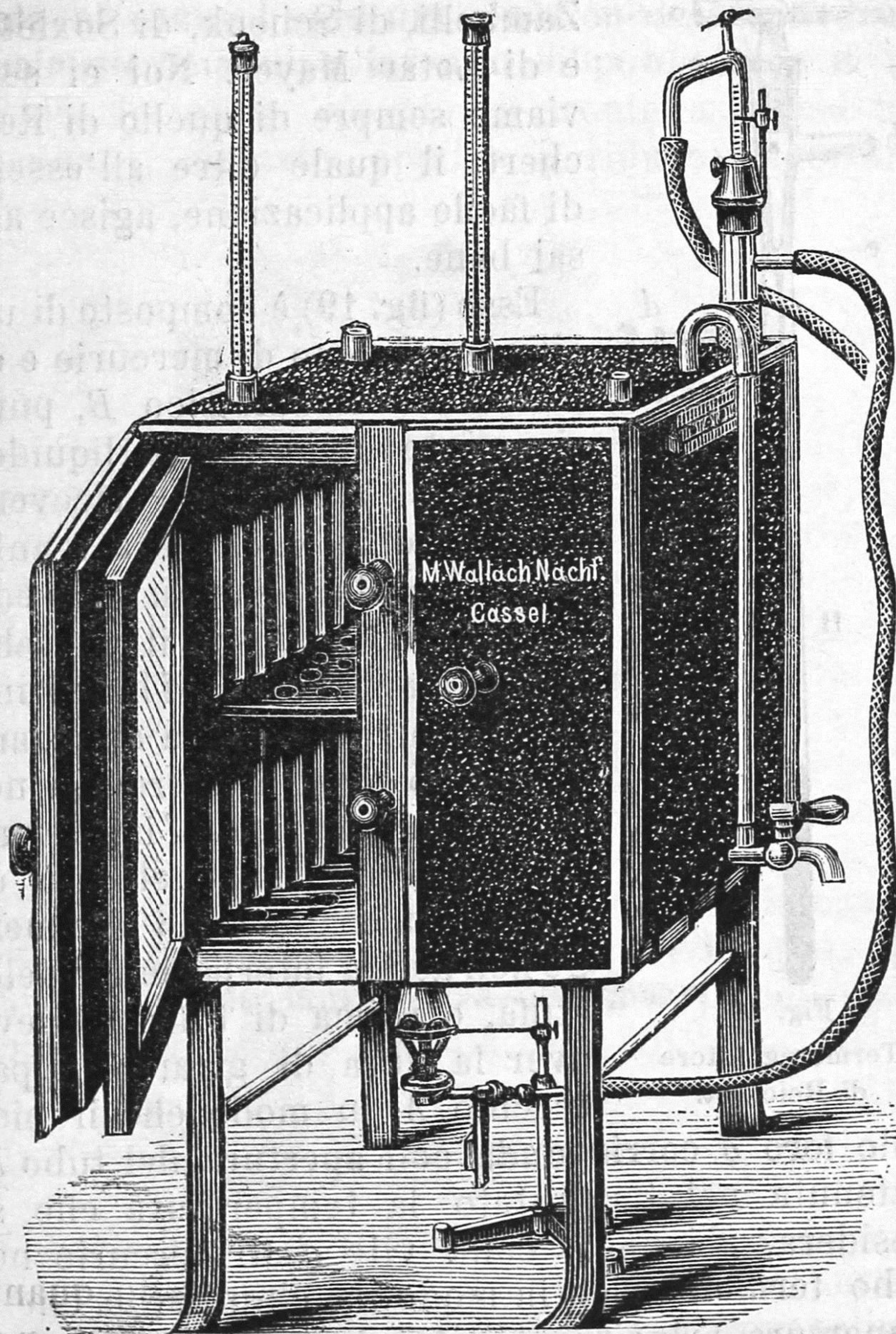



Fig. 18. — Altro termostato fra i più usitati.

detto, i termoregolatori. Ve ne hanno parecchi,

e fra i più comuni sono noti quello di Kemp e Bunsen, quello di Reichert, di Zambelli, di Schenk, di Soxleth, e di Lotar Mayer. Noi ci serviamo sempre di quello di Reichert, il quale oltre all'essere di facile applicazione, agisce assai bene.

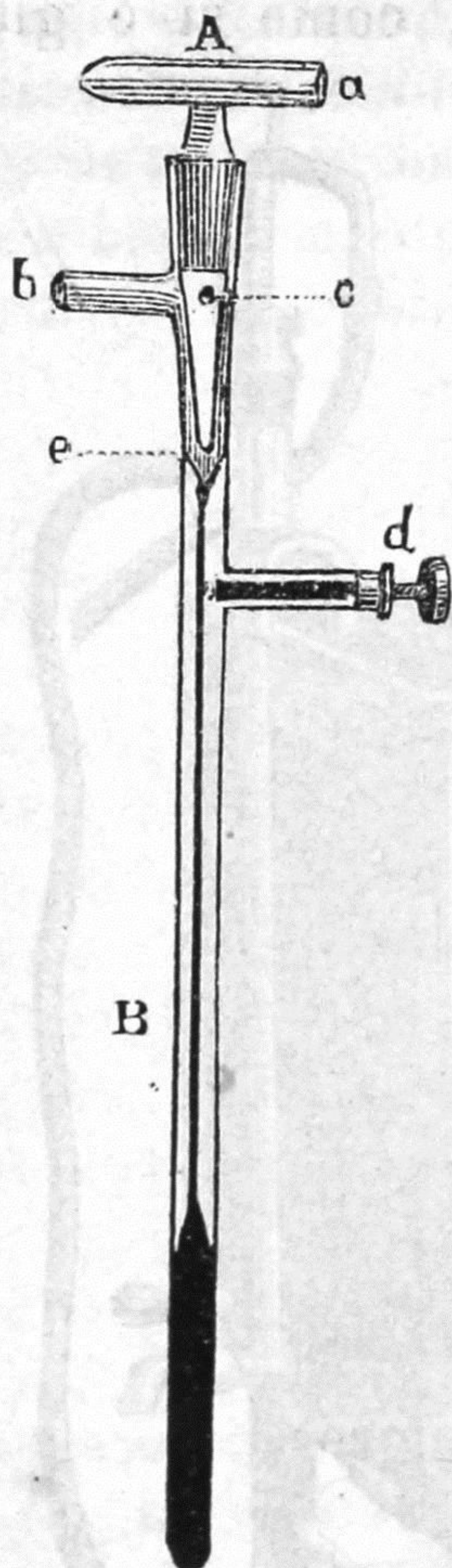



Fig. 19.
Termoregolatore di Reichert.

Esso (fig. 19) è composto di un cilindro ripieno di mercurio e di un tubo termometrico *B*, pure riempiuto dello stesso liquido; in alto si allarga per ricevere l'apparecchio *A* che è a tenuta d'aria e porta il gaz. In *b* si vede il tubo per cui esce il gaz che va alla lampada ed in *d* havvi una vite di ferro destinata ad alzare o ad abbassare il mercurio nel tubo termometrico. L'istrumento, come abbiamo detto, è di facile applicazione. Lo s'immerge nell'acqua interparietale della stufa, e prima di tutto si deve aver la cura di girare l'apparecchio *A* in modo che il piccolo foro *c* corrisponda coll'apertura del tubo *b*. Ottenuta nel termostato la temperatura che si desidera, s'innalza colla vite *d* il mercurio nel tubo termometrico in modo da chiudere *e*, che è l'apertura principale di *A*, e la fiamma diminuirà sensibilmente non essendo più alimentata che dal poco gaz che giunge da *c*. A questo punto il ter-

moregolatore è messo in funzione e la temperatura sarà mantenuta costante o quasi. Nei casi, in cui benchè l'apertura *e* sia chiusa, la fiamma si conserva troppo intensa, si può girare *A* in modo che *c* non sia più di fronte a *b*, ma rimanga in disparte, oppure si riduce l'apertura di *c*.

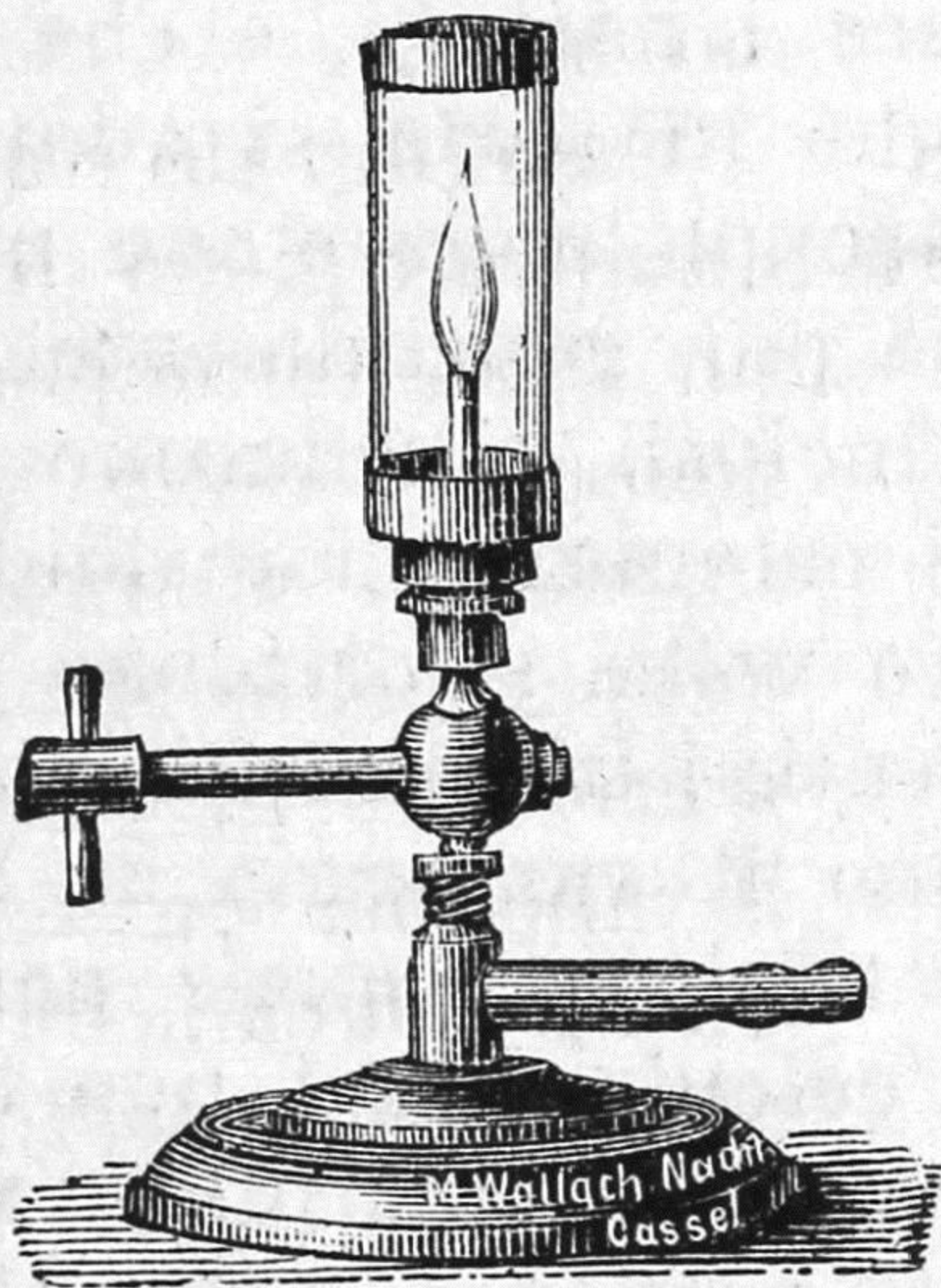



Fig. 20. — Lampada a piccola fiamma.

Quando non si possiede un termoregolatore, si adopera con profitto la lampada di Giroud, oppure un'altra lampada a fiamma piccolissima quale è quella qui figurata (fig. 20).

XIII.

Sostanze di nutrizione e loro preparazione.

Per la coltivazione dei microbi s'impiegano parecchie sostanze, diverse per composizione chimica e per densità. Prima d'ora non si usavano

che sostanze liquide, infusi, decozioni ed altre, valgano ad esempio l'urina neutralizzata, l'infuso di fieno, il decotto di prugne, ecc., ecc.; attualmente, a merito del Koch, sono stati introdotti i mezzi solidi, fra i quali primeggiano i trasparenti, cioè le gelatine ed il siero coagulato. Il ricordare qui tutti i mestrui, nei quali si possono sviluppare i microbi, e che furono anche adoperati, e che in parte si adoperano ancora, sarebbe cosa troppo lunga e non necessaria, poichè quelli che più generalmente sono oggi in uso, ossia i principali, si riducono a pochi, divisi in due grandi categorie, cioè solidi e liquidi. I primi, alla loro volta, si dividono in trasparenti e non trasparenti; i trasparenti, che abbiamo già ricordati, hanno il vantaggio di lasciar vedere assai bene il modo col quale nel loro seno si sviluppano le colonie. Fra i non trasparenti ricordiamo le patate, poichè il loro uso ha trovato un'applicazione pratica e molto diffusa. Alcuni microbi, come quelli del tifo, della morva e del carbonchio antracico, si sviluppano sulle patate presto e bene producendo delle colonie affatto caratteristiche. Si aggiunga che questo è un substrato di facile preparazione e alla mano per tutti.

Ecco come lo si prepara. Si prendono le patate, avendo cura di sceglierle di media grossezza, con poche gemme, a pelle sottile e liscia, e si puliscono bene dalla terra e da altre sostanze estranee lavandole in acqua comune. Si pongono quindi per circa mezz'ora nel sublimato corrosivo all' 1 ‰, e poi si lavano di nuovo, questa

volta in acqua distillata. Ciò fatto si collocano nella sterilizzatrice a vapore in apposito recipiente e si fanno cuocere. Si deve aver cura di spegnere in tempo il gaz, ossia prima che per troppa cottura incominci a squarciarsi la corteccia. Le patate si possono tagliare e collocare nelle camere umide appena cotte, prima però di farvi la semina, bisogna attendere che si raffreddino. Se non si adoperano subito si lasciano nella sterilizzatrice, dove rimangono riparate dai germi meglio che in qualsiasi altro ambiente.

La poltiglia di patate e quella di pane sono di uso meno esteso delle patate semplici e quindi ci limitiamo a ricordarle soltanto. Il riso al latte preparato con mescolanza di riso cotto, brodo e latte, è d'introduzione troppo recente, perchè possiamo pronunciarci sulla bontà di questo nuovo substrato.

Venendo ora a dire dei substrati solidi e trasparenti, incominceremo dalla gelatina peptonizzata, siccome quella che gode la massima applicazione.

Ecco come si procede per prepararla. Si prende $^1/_2$ chilogr. di carne di manzo magra, la si taglia finamente, o la si pesta, quindi la si pone in un vaso di vetro coperto, meglio di tutto è una bevuta di Erlenmeyer, con 1000 grammi di acqua distillata, e per 18-24 ore si lascia in infusione in un ambiente possibilmente fresco. Ciò fatto si raccoglie il liquido, compreso quello che esce spremendo la carne a mezzo del torchio o in altro modo, e si procura di portarlo nuovamente ai 1000 grammi, ag iungendo acqua distillata, nel

caso che non arrivi al peso primitivo. Al liquido così ottenuto vanno aggiunte parecchie sostanze in proporzioni che non sono costanti. Noi prepariamo le gelatine nutrienti secondo la formula seguente:

Carne di manzo	gr.	500
Acqua distillata	»	1000
Peptone secco e bianco	»	10
Sale di cucina.	»	5
Gelatina	»	80

Aggiunti i tre ingredienti ultimi ricordati al litro di infuso, si colloca il tutto nella sterilizzatrice a vapore e si fa cuocere. D'ordinario in una ora e mezzo, contando il tempo dal momento in cui l'acqua incomincia a bollire, la gelatina è cotta; a questo punto essa ha assunto un color chiaro, e presenta alla superficie una schiuma cenerognola. È importante che la cottura sia riescita completa, altrimenti la gelatina potrebbe più tardi intorbidare per nuova albumina che precipita in forma di fiocchi.

Quando nasce il dubbio che la cucinatura non sia al grado voluto, è regola di filtrare una piccola quantità di gelatina in una provetta e farla bollire; se non si formano precipitati, l'operazione è finita. Si badi che procedendo in tal guisa essa più volte intorbida leggermente, per la presenza di fosfati, ma poi si fa di nuovo bella raffreddandosi. Appena levata di stufa, siccome reagisce acida e non servirebbe per le colture dei microbi, è necessario neutralizzarla, o meglio renderla leggermente alcalina. A tal

uopo si aggiunge, a poco a poco, del carbonato di soda, si mescola di continuo con un bastoncino di vetro e si fanno saggi di reazione con le carte di tornasole. Questa operazione è delicata ed è perciò da consigliare che sia fatta con molta esattezza. La gelatina è approntata bene per la coltivazione dei microbi, quando non ha azione sulla carta azzurra di tornasole, e tinge leggermente in azzurro quella rossa. Se per caso fosse stata aggiunta sostanza alcalina in eccedenza, bisogna porvi ripiego con qualche goccia di liquido acido (acido lattico). Tutto questo procedimento deve essere fatto a gelatina ben calda, appena levata di stufa, altrimenti si corre il rischio di vederla intorbidare dopo filtrata, durante le sterilizzazioni, e ciò per prodotti di neutralizzazione che si possono formare. Finalmente lo stesso giorno o il giorno dopo (in quest'ultimo caso bisogna di nuovo liquefarla), la si filtra coll'imbuto già indicato (fig. 15), nel quale si colloca un piccolo filtro in fondo e uno grande quanto l'imbuto all'interno del primo. Si versa la gelatina, avendo cura che a questo punto l'acqua interparietale sia ben calda, ed essa passerà con discreta rapidità in un matraccio che la raccoglie. Ora più non resta che travasarla nei tubi di assaggio, e sterilizzarla nella stufa a vapore per tre giorni di seguito per mezz'ora alla volta.

Avvertiamo che per passare la gelatina dal matraccio alle provette, si prende una pipetta sterilizzata, oppure un imbutino di vetro, pure sterilizzato; tanto nell'un caso, quanto nell'altro,

si deve impedire che venga imbrattata la parte superiore della provetta ed è utile osservare che il quantitativo non ecceda il $^1/_3$ della lunghezza totale del tubo.

Una gelatina così ottenuta è pronta per le colture dei microbi, e offre dei vantaggi veramente significanti. Uno dei principali, di fronte alle altre di cui parleremo in appresso, si è certamente quello che un gran numero di questi microrganismi si sviluppa in essa in modo caratteristico.

Se vi è il sospetto che qualche tubo di assaggio non sia sterile, lo si colloca nel termostato ad una temperatura di 25°-30°; se la gelatina dopo uno o due giorni sarà ancora perfettamente trasparente, si può essere certi che è sterile, e quindi atta a ricevere colture.

Il materiale di nutrizione, del quale abbiamo ora parlato, mentre è forse il più diffuso ed il più usato, ha però un inconveniente piuttosto grande, e si è che in presenza di una temperatura un po' elevata, 25° circa, si rende liquido, e non serve più che come un brodo. Talvolta succede, se il termoregolatore non funziona bene, che si segue lo sviluppo caratteristico di una data colonia di microbi in gelatina e poi ad un tratto si ha la delusione di trovare tutta la coltura disseminata nel substrato liquefatto. Di questi inconvenienti nella state succedono con una certa frequenza anche per effetto della temperatura dell'ambiente, specialmente se in quest'ultimo penetra il sole. A questo punto ci piace anzi di avvertire che durante la stagione fresca è bene prepararsi una certa scorta di questo substrato,

poichè facendolo nella state, più volte succede che senza l'aggiunta di un percento di agar non si riesce a far sì che si consolidi.

Le gelatine nutrienti, con qualunque formula sieno composte, fondono sempre circa sui 25°, e perciò se è necessario, come talvolta accade, di portare la temperatura a questo grado di calore o più in alto, esse perdono i vantaggi che realmente hanno i mezzi solidi e trasparenti del Koch.

Il dott. Hesse ha per il primo proposto una gelatina vegetale speciale, agar-agar, in sostituzione di quella animale, la quale ha appunto il grande vantaggio di conservare la sua solidità fino ad un grado di calore abbastanza elevato, cioè fino oltre i 40°. Questa sostanza si ricava da due piante, che sono la *Gracilaria lichenoides* e la *Gigartina speciosa*, ed oggi in commercio se ne trova in abbondanza.

Colla sostituzione nella formula già data dell'agar-agar alla gelatina di pesce si ottengono appunto le gelatine agar-agar, che sono tanto in uso e tanto preziose per la coltivazione dei microbi, specialmente patogeni. Appunto perchè non fondono che ad un grado di calore elevato, si prestano bene, oltre che per le coltivazioni nel termostato, per quelle che si fanno nella state, e per eventuali spedizioni di colture in tale stagione.

Anche per la preparazione di questa gelatina, come per la precedente, gli autori ci presentano formule diverse. Noi ci siamo sempre trovati bene con quella già ricordata, che qui riportiamo

debitamente modificata per la sostituzione dell'agar-agar alla gelatina animale.

Carne di manzo	gr.	500
Acqua distillata	»	1000
Peptone secco e bianco	»	10
Sale di cucina	»	5
Agar-agar	»	15

Il procedimento corre in buona parte paralello a quello già tenuto per la fabbricazione delle gelatine nutrienti.

Si prende la carne di manzo magra, la si taglia finamente, la si colloca con acqua in infusione per 18 24 ore. Contemporaneamente si prende l'agar-agar, si taglia a pezzetti, e si pone in altro recipiente con tanta acqua, di quella però già pesata, quanta è sufficiente per inzuppare e far gonfiare bene questa gelatina; usando tale pratica si scioglie meglio e si cuoce più presto. Il giorno dopo si procede nel modo che già conosciamo; si mette tutto in un matraccio e si cuoce per tre ore di seguito. Quindi si leva, si neutralizza e si filtra. Osserviamo che la filtrazione nel caso dell'agar-agar non procede così spedita come per la gelatina nutriente; tuttavia se si ha cura di preparare un filtro a molte pieghettature, in modo cioè che non aderisca troppo all'imbuto, il liquido passa abbastanza presto e bene. Noi abbiamo l'abitudine di filtrare la gelatina appena cotta e neutralizzata; ci sembra così che l'operazione proceda più sollecita, specialmente se versando la gelatina sul filtro la si fa passare per una rete metallica a maglie fitte

che trattiene quanto vi è di grossolano e di inutile. La filtrazione riesce bene anche attraverso uno strato di cotone.

Ed ora veniamo al substrato che più d'ogni altro si addice allo sviluppo dei microbi patogeni, intendiamo parlare del siero di sangue sia liquido come coagulato.

La preparazione del siero non presenta difficoltà, ma occorrono però molte pratiche non disgiunte da grande perdita di tempo.

In primo luogo è mestieri approntare vasi cilindrici di vetro con coperchio pure di vetro, ciascuno dei quali abbia la capacità di 2 litri circa. Tali vasi e relativi coperchi devono essere sterilizzati con sublimato corrosivo all'1 $^{0}/_{00}$, e quindi lavati con alcool, poscia asciugati a fiamma moderata. Ciò fatto si chiudono bene con vaselina o con paraffina e si portano sul luogo per la raccolta del sangue. Senza tener conto qui dei casi isolati, in cui il sangue si raccoglie dall'uomo o da qualche animale che viene ucciso in modo privato, d'ordinario è mestieri recarsi al pubblico macello. La tecnica batteriologica raccomanda che esso sia levato con speciali cautele, cioè radendo il pelo dell'animale prima di mettere a nudo il vaso sanguigno; raccomanda poi di non raccogliere il primo getto, e di impedire che esso trascini seco peli ed altre impurità. Nei macelli pubblici, dove più o meno bisogna mettersi nelle mani di gente ignorante, tutte queste regole non si possono sempre eseguire rigorosamente. Raccolto il sangue dell'animale macellato, lo si colloca subito in luogo sicuro, d'onde non venga

più smosso, lo si circonda di ghiaccio e lo si lascia così in riposo per un pajo di giorni. In capo a questo tempo il siero, di un bel color giallo di succino, è completamente separato dalla focaccia fibrinosa che gli sta al disotto. Non rimane ora che aspirarlo con una pipetta sterilizzata per passarlo nei matracci o direttamente nelle provette sterilizzate. Intorno alla sterilizzazione del siero abbiamo già detto più sopra (vedasi a pag. 83 e 87). Qui raccomandiamo soltanto di tenere fissa la temperatura sui 58°-60°; per poco che essa salga, può far sì che i sieri coagulino, specialmente quelli che sono in contatto con le pareti della stufa. A noi sembra opportuno, appena i tre termometri segnano il grado di calore voluto, di spegnere la sterilizzatrice per riaccenderla subito che la temperatura decresce, ciò che non accade che dopo una mezza ora o più.

La coagulazione si fa pure nel modo ormai indicato (pag. 88); aggiungiamo al già detto che quando si vede che i sieri incominciano a coagulare, bisogna tenerli d'occhio e levarli per tempo. Di solito, quando il termometro segna 75°, si tiene scosso a brevi intervalli di tempo il coagulatore per accorgersi appena i sieri incominciano a consolidarsi.

È noto che i sieri coagulati hanno una certa durata, ma poi perdendo acqua, in capo ad un tempo variabile, specialmente se la temperatura dell'ambiente è elevata, si disseccano e si rendono inservibili. Per evitare questo inconveniente, noi li coaguliamo mano mano che ne abbiamo bisogno, gli altri li teniamo allo stato liquido; in

questa guisa si possono conservare assai più a lungo.

Sarebbe cosa utile che tutti i substrati solidi e trasparenti, dei quali abbiamo parlato, fossero sempre ben chiusi, e specialmente nella state, oltre

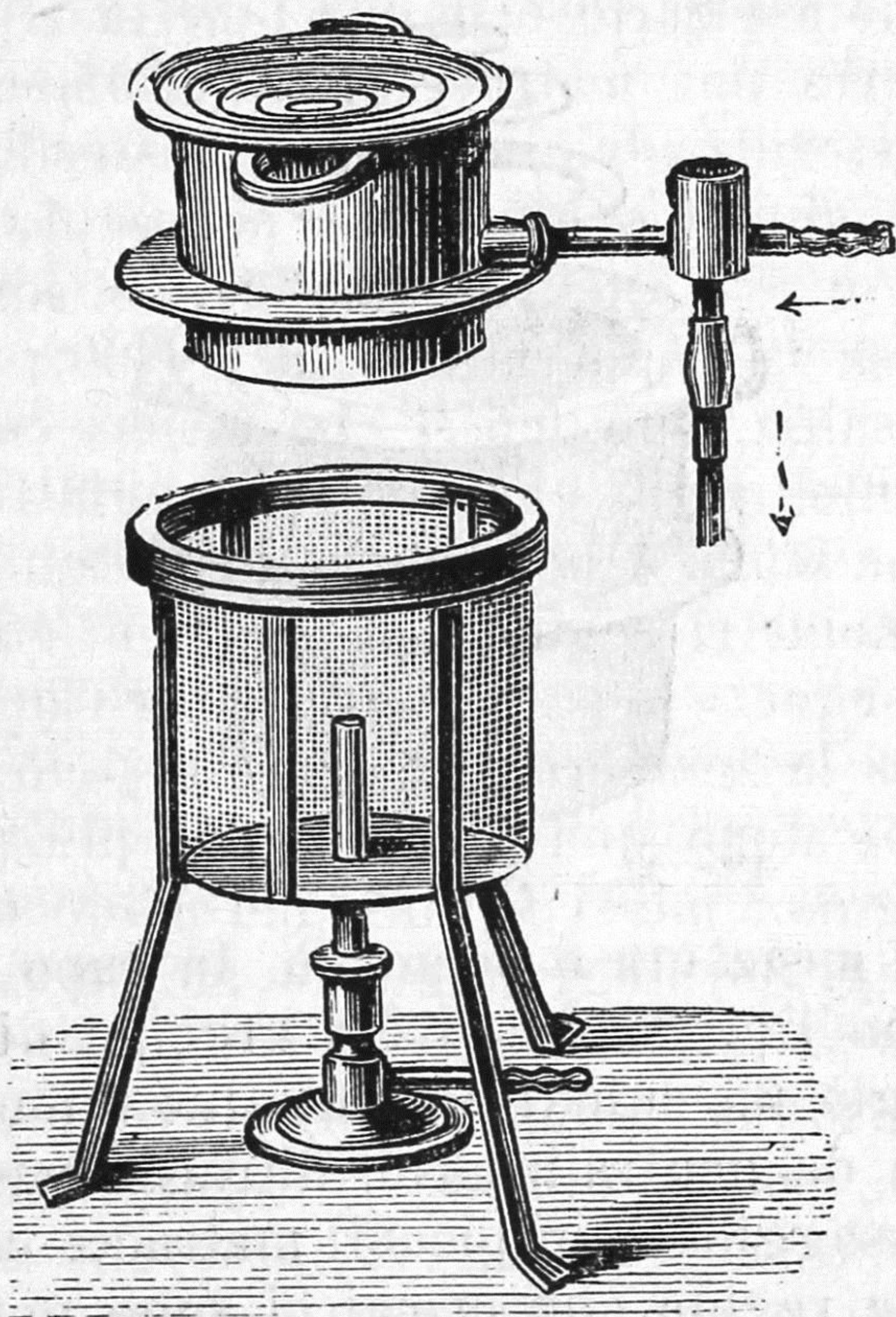



Fig. 21. — Bagnomaria con acqua a livello costante.

che col solito tappo di cotone con un berretto di gomma, oppure di carta impermeabile. In tal modo vi sarebbe meno evaporazione di acqua e meno pericolo di inquinamento per parte di germi di microrganismi diversi.

I liquidi di coltura, come abbiamo già detto, sono parecchi. I più usitati sono i brodi, i quali

vengono preparati in diversi modi e con diverse formule. Noi ci atteniamo ad un metodo semplice e facile. Facciamo bollire 500 grammi di carne di vitello magra in 1000 grammi di acqua entro un matraccio posto a bagnomaria (fig. 21

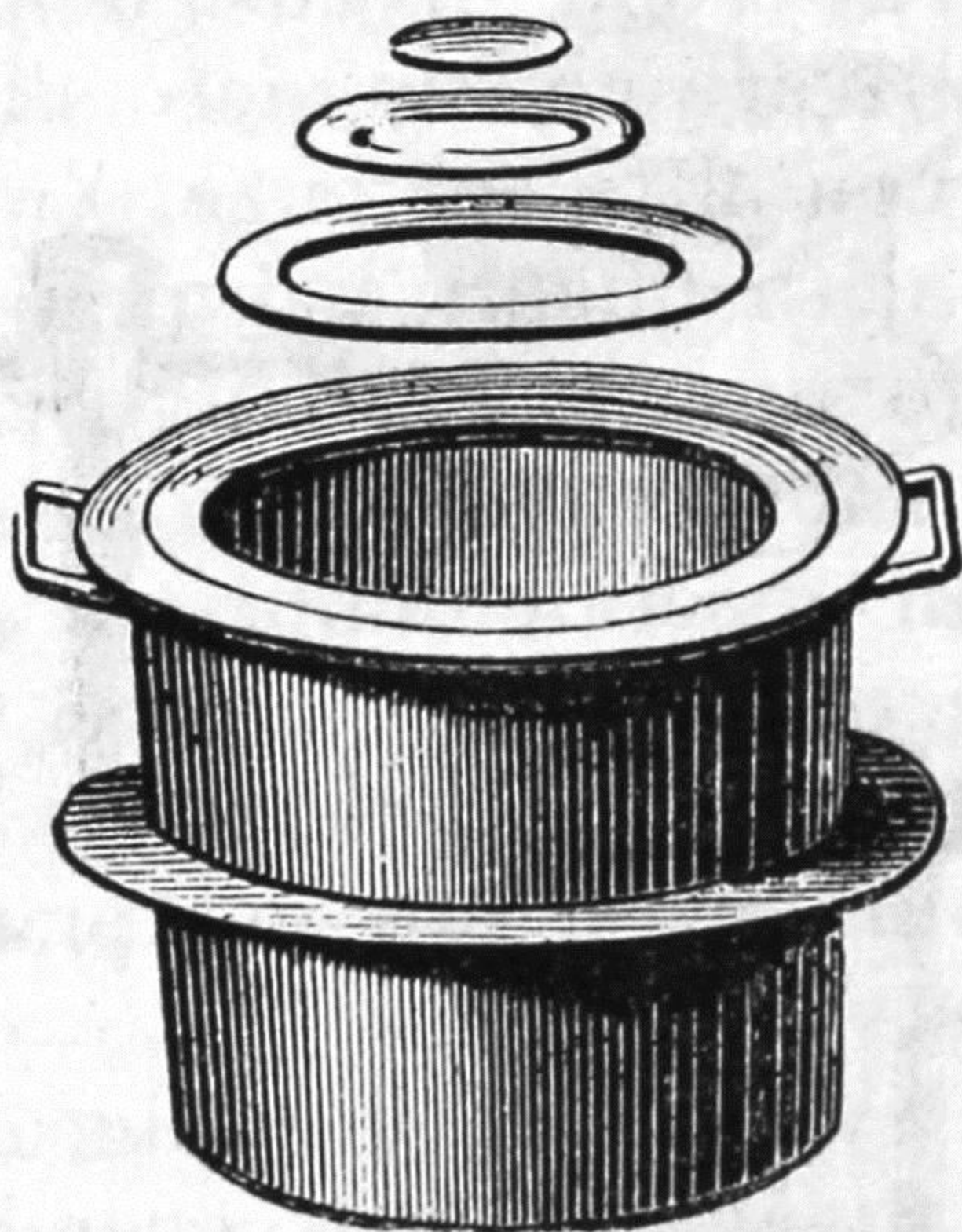



Fig. 22. — Altro bagnomaria.

e 22) per mezz'ora o poco più. In capo a questo tempo, con l'aggiunta di 6-8 grammi di sale, il brodo è già un substrato nutritivo buono, e non si ha che da neutralizzarlo, filtrarlo, passarlo in tubi di assaggio od in piccoli matracci e sterilizzarlo colle regole che ormai ci sono note.

XIV.

Coltivazione dei microbi.

Nelle sostanze di nutrizione, delle quali abbiamo ora parlato, si possono coltivare moltissimi microbi anche fra loro molto diversi. Un gran nu-

mero si sviluppa su qualunque dei substrati ricordati. e spesso lo fanno originando, su taluni di essi, colonie caratteristiche. Molti si riproducono bene e con rapidità in alcuni di essi, e non lo fanno o le fanno lentamente in altri. Finalmente ve ne sono di così delicati, che non si possono coltivare che in siero di sangue puro o mescolato con altre sostanze. Ve ne hanno poi di quelli, e chi sa quanti, pei quali non abbiamo ancora trovato un mezzo di nutrizione adatto, e che perciò non possediamo nei gabinetti in colture isolate. In generale dobbiamo dire che è più difficile ottenere in colture nette i microbi *patogeni* che i *saprofiti* o *saprogeni*, i quali si adattano assai più facilmente dei primi a qualunque ambiente.

Il modo di svilupparsi dei microbi nei diversi mezzi accennati è spesso di grande importanza nel riconoscimento delle forme. Veniamo ora a qualche esempio, e in pari tempo apprendiamo a trasportare del materiale da una coltura nei diversi mezzi di nutrizione per averne altrettante colture separate.

A) Colture nei tubi di assaggio.

Supponiamo di avere in un tubo di assaggio, contenente della gelatina agar-agar, una coltura pura di carbonchio antracico, e di volerla riprodurre in altro tubo di assaggio contenente gelatina peptonizzata. Si prendono i due tubi di assaggio, si smuovono i tappi di cotone per essere sicuri che non sono attaccati al vetro, e

quindi si sterilizza alla fiamma l'ago di platino. Ciò fatto si tengono i tubi obliqui e rivolti in basso, e appena l'ago è raffreddato, ciò che accade nel periodo di pochi secondi, si levano i tappi, si tocca coll'ago la coltura, e quindi subito lo si immerge nella gelatina infiggendolo in essa per un paio di volte: poscia immediatamente si chiudono i tubi, perchè non vi penetrino microrganismi. È naturale che si deve avere ogni cura, perchè la parte dei tappi che deve entrare nei tubi non venga a contatto con nessun oggetto, e per maggior precauzione, siccome necessariamente quando si levano, viene in contatto coll'aria, è sempre prudente di passar alla fiamma l'ultima porzione del tubo e tenervela, girandola, finchè il cotone incomincia a prendere una tinta scura. La pratica insegna in breve tempo ad eseguire queste operazioni presto e bene.

Se invece della gelatina peptonizzata il tubo contenesse agar-agar o siero coagulato, si procederebbe nello stesso modo. Ricordiamo che in molti casi si usano, per le ragioni già note, i substrati ora ricordati non a superficie orizzontale, ma tirati a becco di flauto; in questo caso non si fanno più i trasporti per *infissione*, come abbiamo indicato ora, ma bensì invece per *disseminazione*. Il procedimento è simile al precedente. Si prende nella coltura un po' di materiale coll'ago di platino, o meglio coll'ansa, che non è altro che un ago all'estremità incurvato per formare un occhiello, quindi entrati nel tubo dove si vuole ottenere lo sviluppo, anzichè perforare

il substrato, si passa dolcemente sulla sua superficie facendo delle striscie.

Ma ritorniamo ora alla nostra gelatina peptonizzata e seguiamo lo sviluppo della colonia. Se il tubo di assaggio è stato posto ad una temperatura costante di 23°-24°, dopo 3-4 giorni la colonia sarà sviluppata e si presenterà affatto caratteristica. Alla superficie essa ha invaso buona parte del substrato, è ristretta in basso e forma un imbuto. Lungo il canale d'infissione partono in direzione circa orizzontale numerosi filamenti che sono appunto quelli che dànno alla colonia l'aspetto caratteristico.

La gelatina peptonizzata è il substrato più importante per lo studio delle proprietà biologiche dei microbi. Alcuni sviluppandosi in essa la fluidificano, altri la lasciano solida. Molti (aerobi) tendono alla superficie, altri (anaerobi) verso il basso. Le forme poi delle colonie sono diverse col variare delle specie e s'imparano a differenziare soltanto colla pratica.

B) Colture sulle lastre.

Sulle lastre di vetro, che possono avere dimensioni diverse, si fanno delle colture generalmente allo scopo di isolare fra molte forme quella o quelle che più c'interessano, od anche per garantirci che una data coltura su cui facciamo degli studi speciali è veramente pura. Supponiamo di aver raccolto da un coleroso delle feci diarroiche, di averle esaminate al microscopio, e di aver in esse osservato parecchie specie di microbi. Per

ottenere separate tutte queste specie, e più ancora il vibrione colerigeno, che è quello che nel caso concreto cerchiamo, facciamo delle piastre. Il procedimento è abbastanza semplice. Abbiamo già detto altrove (pag. 80) come si sterilizzano i cristallizzatori e come si preparono all'uopo. Qui dobbiamo ancora osservare che prima di collocare sullo sgabello di vetro la lastra, dobbiamo porvi la bolla per essere ben certi che la camera umida è perfettamente orizzontale. Se non lo è, si muovono le viti dell'apparecchio livellatore finchè la bolla d'aria indica una orizzontalità perfetta. Ottenuto questo e preparata la lastra in posto, si prende una gelatina peptonizzata, si rende liquida a moderato calore, possibilmente a bagnomaria a 28°-30°, o in modo più sollecito direttamente alla fiamma; in questo caso però si abbia cura di assicurarsi che essa non è troppo calda per ricevere i microbi. Quindi si prenderà coll'ago di platino, o coll'ansa, una piccola quantità del materiale da disseminare — trattandosi di feci diarroiche si procurerà di pescare uno di quei fiocchetti che sono formati dalla mucosa ravvolta su sè stessa — e si stempera sbattendo per qualche secondo l'ago nella gelatina. Per provocare una disseminazione il più possibile completa, dopo chiuso il tubo di assaggio col suo tappo, si agiterà la gelatina, facendo però in modo da non produrre troppa schiuma. Finalmente prima che essa si faccia di nuovo densa, ma lasciando passare lo stadio di soverchia scorrevolezza, si leva con cautela la campana che funge da coperchio della camera umida, e si versa il liquido

sulla lastra. A questo punto si avrà pronta una bacchetta di vetro piegata a ginocchio e sterilizzata per distribuirlo in uno straterello uniforme, ma abbastanza grosso. In mancanza della bacchetta si può giungere allo stesso intento valendosi dell'imboccatura della provetta, che deve però venire previamente sterilizzata alla fiamma, e quindi lasciata raffreddare. Trascorso un po'di tempo, cioè appena la gelatina si è consolidata, ciò che si può ottenere rapidamente a mezzo del ghiaccio, si leva la camera umida dal livellatore, e la si pone nella incubatrice a 20° circa. Con questo procedimento però si sviluppano nella massima parte dei casi le colonie di microbi sulla piastra di gelatina troppo stipate, tanto che in breve tempo confluiscono insieme e si mescolano.

Per togliere questo inconveniente, si ricorre alle cosidette *diluizioni*. Ecco come si procede in questo caso. Si fondono tre gelatine alla temperatura già indicata nel caso precedente; e nel modo pure già indicato si fa la disseminazione del materiale in una di esse. Da questa si trasporta quindi del materiale, coll'ago di platino sterilizzato, nella seconda e da questa, dopo di aver fatto le solite manipolazioni, nella terza. Ognuno comprende facilmente che nelle gelatine così preparate abbiamo un numero di microbi decrescente dalla prima alla terza. Ora tanto si possono versare sulle lastre di vetro tutte tre le gelatine per farne tre piastre, come due, oppure una soltanto, l'ultima. In quest'ultimo caso vedremo in capo a 24-48 ore svilupparsi le colonie

in numero scarso, e perciò ben separate le une dalle altre. Avvertiamo che quando non si ha intenzione di valersi per far piastre di tutte tre le gelatine, che hanno servito per le diluizioni, alle due prime si può sostituire, nella stessa quantità, l'acqua distillata e sterilizzata.

Si può dire che appena le campane sono in stufa, i microbi impigliati nella gelatina a diverse distanze fra di loro, incominciano a riprodursi, e in capo a 24-48 ore si vedono ormai bene le loro colonie, le quali hanno forma, colore e grandezza diverse. Alcune osservate al microscopio a piccolo ingrandimento (Zeiss, obb. A, ocul. 4 e diaframma stretto) presentano un aspetto affatto caratteristico. Nel caso concreto della disseminazione da noi fatta con materiale di coleroso, se ci accorgiamo che la piastra presenta qua e là delle piccole macchiette circolari, la collochiamo sul piatto del microscopio ed esaminiamo le singole colonie; ne vedremo di quelle profonde e altre di superficiali, di quelle che liquefanno il substrato e di altre che lo lasciano intatto, e in mezzo a tutte queste osserveremo quelle a margini frangiati, che hanno l'aspetto di un mucchietto di cristalli e che sono appunto altrettante colture nette di *Bacillus komma.* Se vogliamo riprodurre coteste colonie, non abbiamo che da pescare in esse a mezzo dell'ago sterilizzato (pesca-colonie) una piccola quantità di materiale, e farne i trasporti nei tubi di assaggio; contemporaneamente per controllo si sogliono allestire preparati da esaminare al microscopio a forte ingrandimento. Se nei tubi di assaggio le

colture si sviluppano impure si fanno col nuovo materiale ottenuto piastre ancora, ed in tal guisa si riesce in breve tempo ad ottenere le colture nette che si desiderano.

I bacilli del carbonchio antracico, quelli della setticemia dei topi e molte altre forme presentano del pari in colonia sulla piastra un aspetto caratteristico.

Sovente interessa di osservare a forte ingrandimento e colorata una colonia intera (o buona parte di essa) fra quelle sviluppatesi sulla piastra. In questo caso si prende il vetrino coprioggetti, lo si lascia cadere sopra una delle colonie meglio sviluppate e più superficiali, lo si comprime un po' contro di essa, quindi si leva, si fissa alla fiamma il preparato come di consueto, si tinge e si esamina.

Un altro modo di disseminare sulla gelatina in piastre si è quello a mezzo degli *innesti lineari*; in questo caso però si riesce più difficilmente che nel caso precedente ad ottenere lo sviluppo di colonie ben distinte le une dalle altre. Il procedimento è semplice. Sciolta una gelatina, la si versa sulla lastra di vetro, nel modo che già conosciamo, e la si distende uniformemente; quindi, prima che si consolidi troppo, coll'ago di platino, non coll'ansa, si entra nel liquido che contiene i microbi e si praticano rapidamente sulla piastra alcune strie parallele. Con tale maniera di disseminazione lo sviluppo dei microbi non ha una distribuzione regolare. Di solito accade che le colonie sono assai stipate nei punti della gelatina toccati dall'ago pei primi.

Finora abbiamo sempre parlato di una sola lastra di vetro nella camera umida; ma più volte può far comodo, specialmente se si ricorre alle disseminazioni per diluizione, di collocarvene due, tre o più. La cosa è semplicissima; sopra la prima lastra si pone uno sgabello sterilizzato, e quindi l'altra lastra, e così di seguito finchè ve ne stanno.

Oltre che colla gelatina peptonizzata, seguendo il medesimo procedimento, si fanno piastre anche con quella all'agar-agar.

C) Colture nei liquidi.

Quando non si conoscevano i mezzi solidi e trasparenti del Koch, si facevano disseminazioni nei liquidi, anche allo scopo di giungere ad ottenere colture nette. Quanto sia difficile il riescire nell'intento per questa via, è facile immaginarlo, quando si pensa che in seno al liquido i microbi vengono continuamente in contatto gli uni cogli altri, e quindi le forme più svariate si trovano insieme confuse. Nei mezzi solidi, nelle gelatine, i diversi individui rimangono al loro posto, imprigionati nel substrato, e là originano colonie che soltanto ingrandendo possono confondersi; i liquidi invece, come ben si comprende, mancano di questo vantaggio. Questa è la ragione, per la quale oggi tali substrati non si usano che per le colture già pure. Il brodo di carne è il liquido più usato, e la disseminazione in esso di una forma qualsiasi viene fatta in modo tanto semplice, che non ha punto bisogno di speciali

istruzioni. Faremo ancora osservare che nei brodi le forme hanno in generale la tendenza ad allungarsi ed a svilupparsi in elementi a catenella. Il carbonchio antracico ce ne fornisce un esempio.

Dobbiamo qui far menzione anche della goccia pendente, che si suole ottenere nel modo che segue. Si prende il filo di platino conformato ad ansa e previa sterilizzazione lo s'immerge nel liquido che contiene i microbi che si vogliono osservare. L'ansa si carica di una piccola quantità del liquido predetto. Poscia si tocca con essa leggermente un coprioggetti, in guisa che a questo rimanga aderente una piccola goccia. Ciò fatto, si prende un portaoggetti concavo, e si circonda la cavità centrale con vaselina molle od altra sostanza atta ad impedire l'accesso dell'aria. Quindi si rovescia il portaoggetti e lo si preme dolcemente contro il coprioggetti, che vi resterà appiccicato insieme alla goccia che penderà entro la cavità sopra menzionata, quando il portaoggetti sarà tenuto nella sua normale posizione. Se i microbi che si vogliono osservare sono cresciuti sopra un substrato solido, si pone sul coprioggetti una goccia di acqua distillata nella maniera suddescritta, e vi si porta coll'ago di platino una piccola quantità di essi. Siccome la goccia non svapora, si possono osservare con questo metodo i microbi per parecchi giorni di seguito in condizioni molto simili alle naturali, vedere se e come si muovono, seguire il loro sviluppo ed eventualmente la sporificazione. La goccia pendente presta i suoi migliori servigi a chi vuole studiare direttamente i microbi; ma in

determinati casi torna utile eziandio nei tentativi di coltivazione. Nel caso di osservazione diretta devesi rivolgere l'attenzione principalmente sui bordi della goccia, sia perchè ivi il liquido forma uno strato meno alto, sia perchè i movimenti dei microbi vi sono più limitati, e ancora perchè gli aerobii, vi affluiscono in maggior quantità.

D) Colture sulle patate.

L'uso delle patate quale substrato di nutrizione dei microbi ha raggiunto attualmente una grande importanza. Molte sono le forme, comprese le patogene, che si sviluppano bene su questo mezzo, ecco la ragione per la quale in tutti i gabinetti di batteriologia si fa grande uso di patate. Intorno al modo di sceglierle e di cuocerle abbiamo detto altrove (pag. 98). Ora dobbiamo occuparci della maniera di usarle. Approntate le camere umide per riceverle, si deve aver cura di lavarle una per una nel sublimato all' 1 $^0/_{00}$, lasciandovele immerse per qualche minuto. Quindi tolte da esso colla mano bagnata pure nel sublimato, è utile passarle alla fiamma per qualche istante. Ciò fatto, col coltello apposito sterilizzato alla fiamma al momento, osservando che quando si adopera non sia troppo caldo, si taglia ciascuna patata orizzontalmente in due metà, che si lasciano soprapposte e aderenti, e colla lama del coltello in posto, finchè sono nella campana, dove con prestezza si mettono le due superficie allo scoperto, cioè rivolte in alto, e si chiude.

Questa operazione è semplice, ma non è facile riescire a far sì che non si sviluppino microbi non desiderati, e specialmente il *bacillo delle patate*. Non sarà dunque mai raccomandato abbastanza di sterilizzare tutto per bene, e di aver la massima cura che non penetrino germi nei cristallizzatori una volta che vi sono contenute le patate.

La disseminazione su questo substrato è presto fatta; coll'ago di platino sterilizzato si penetra nella coltura pura che si desidera di riprodurre, e quindi colla punta del medesimo si va a toccare la patata in due o tre punti intorno al centro della superficie di fresco tagliata. Appena si sono fatte le disseminazioni, si collocano le camere umide nell'incubatrice alla temperatura che meglio si crede. La più adatta di solito, trattandosi di forme patogene, è quella di 30°-37°. Già dopo 24 ore si vedono le nuove colonie, le quali sovente hanno un aspetto caratteristico. Le patate si adoperano anche in fette sottili che si chiudono fra due vetri da orologio o in piccolissimi cristallizzatori; comunque il processo di sterilizzazione e di disseminazione è sempre il medesimo.

E) Colture per inoculazione negli animali

In alcuni casi torna utile di trasportare il materiale, che si crede contenga dei microbi patogeni, direttamente in animali che sono all'uopo adattati. Col mezzo delle piastre, di cui abbiamo

parlato poc'anzi, è talvolta impossibile od almeno assai difficile di ottenere la coltura pura di un determinato microbio, ed è allora che conviene di infettare gli animali. È perciò che pratichiamo l'inoculazione del terriccio nelle cavie per ottenere il bacillo dell'edema maligno; quella dell'acqua putrida nei topi bianchi per isolare dal sangue dei cadaveri il bacillo della setticemia dei topi; quella pure dell'acqua putrida nei conigli per separare il batterio della setticemia; l'inoculazione nella camera anteriore dell'occhio degli stessi animali del materiale tubercolotico per conseguire l'isolamento dei relativi bacilli.

Sono molti i casi in cui per rendere pure delle culture che non lo sono si può ricorrere all'infezione degli animali anzichè servirsi delle piastre. Appena poi l'animale è morto, colle regole dell'antisepsi si prende da esso del materiale adatto e se ne fanno trasporti nei substrati più opportuni. Dagli esempi citati, e da altri che si potrebbero aggiungere, possiamo persuaderci, che tale sistema, inaugurato dal Koch e seguito ormai da tutti i batteriologi, può dare sovente buoni risultati.

L'inoculazione viene praticata in maniera assai diversa, a seconda delle circostanze. Talora si limita ad una semplice scalfittura della cute; altre volte si ricorre all'iniezione ipodermica del materiale infettante, nel quale caso i microbi sono portati direttamente nel tessuto sottocutaneo. Cohnheim e Salomonsen hanno consigliato, per alcuni microbi, l'inoculazione nella camera anteriore dell'occhio, e questo procedimento è da

molti seguito. Si tratta l'occhio colla cocaina e lo si incide superiormente fra la cornea e la sclerotica, e per l'apertura così praticata s'introduce il materiale infettante. In alcuni casi conviene portare il veleno direttamente nella circolazione, ed allora s'incide una delle vene, p. es., la giugulare comune o la giugulare esterna, o semplicemente una delle maggiori vene auricolari. Non raramente si eseguisce l'iniezioni di liquidi infettanti nelle grandi cavità del corpo, nel cavo toracico o addominale; ed anche questo procedimento può dare buoni risultati se viene applicato con cautela e se non si perdono di vista gli effetti di esso semplicemente traumatici o meccanici, giacchè è noto, quanto la pleura ed il peritoneo sieno sensibili ad ogni lesione. Più facile riesce di infettare il tubo gastro enterico coll'introdurre in esso il materiale venefico sia per l'apertura orale o per l'ano, ciò che si ottiene col mezzo degli alimenti mescolati ai microbi patogeni, o col mezzo della sonda esofagea o delle siringhe. È stata tentata anche l'introduzione dei microbi patogeni nei polmoni col mezzo dell'inalazione; ma non si ha ancora all'uopo un metodo esente da obbiezioni. In questi organi come nello stesso cuore ed in altri, l'importazione di microbi si fa senza molta difficoltà colle siringhe.

F) Isolamento
dei microbi col mezzo del calore.

Nei casi, in cui si voglia ottenere isolata una forma sporificante e che già abbia prodotto delle spore, la quale si trovi in mezzo a forme che non sporificano, si può ricorrere al calore. Le spore della specie, della quale si desidera di avere la coltura pura, si conservano viventi ed atte a germogliare ad una temperatura, ad es. di 100° C., che avrà ucciso tutte le forme vegetative. Perchè, peraltro, questo metodo potesse essere applicato con successo, occorrerebbe avere delle nozioni più precise sul grado di resistenza al calore delle spore e delle forme vegetative delle varie specie di microbi.

XV.

Sostanze coloranti.

Com'è noto, l'osservazione diretta dei microbi è assai difficile, primieramente perchè la loro statura è piccolissima, ed in secondo luogo perchè il loro indice di rifrazione della luce è poco diverso da quello dell'acqua. Se alla piccolezza della statura si poteva ovviare in passato colla potenza dei microscopi e degli apparecchi ottici che vi andavano annessi, sussisteva pur sempre il secondo ostacolo, il quale venne rimosso soltanto nel decennio prossimo passato (1871) a merito

del Weigert, che introdusse i colori di anilina nella tecnica batteriologica. Nella quale, del resto, si usano anche altri colori, alcuni dei quali di origine animale (a. e. il carmino) ed altri di origine vegetale (a. e. l'ematossilina).

I colori di anilina si ricavano dal catrame del carbon fossile, e furono suddivisi da Ehrlich in acidi e basici, a seconda che la sostanza colorante in quella data combinazione funge da acido o da base. I più usati sono i basici per una proprietà speciale ed importante che possiedono di colorare i nuclei, e più distintamente ancora i microbi, mentre colorano assai debolmente il resto delle cellule e le sostanze intercellulari. Anche i colori acidi di anilina tornano peraltro in alcuni casi utilissimi, perchè, al pari del carmino e dell'ematossilina, colorano fortemente i nuclei, lasciando i microrganismi pressochè intatti.

Da che derivi ai colori di anilina la particolarità di tingere a preferenza i microbi od i nuclei, non siamo in grado di dirlo; essa deve collegarsi con alcuni fenomeni fisici di imbibizione e simili ad altri di chimica affinità: per ora deve bastarci di constatare il fatto.

Vi sono dei microrganismi che vèngono tinti indifferentemente o quasi da tutti i colori basici di anilina; ma ve ne sono altri che si comportano diversamente di fronte ai colori diversi, così che si può ritenere che alcuni microbi hanno un'affinità speciale per un determinato colore. E questa è una sorgente di caratteri differenziali tanto più importante, quanto più cotali caratteri sono

scarsi e poco pronunciati negli esseri semplici, dei quali ci occupiamo. Nè ci accontentiamo di sapere, a quali colori un microbio sia accessibile; ma è utile talvolta di spingere l'indagine più innanzi, per vedere, con quale forza egli sappia rattenere il colore assunto, resistendo più o meno alle sostanze scoloranti.

I colori di anilina più usati in batteriologia sono i seguenti:

Colore rosso. *Fucsina.* — È un colore vivace che difficilmente si sovraccarica, e duraturo. Sono pure in uso i colori acidi *eosina, safranina* ed altri.

Colore violetto. *Violetto di genziana.* — Colora intensamente, e perciò si rende con facilità troppo carico; ha però il vantaggio di essere resistente. *Violetto di metile.* — Colora meno intensamente del violetto di genziana, ed è anche meno duraturo.

Colore azzurro. *Azzurro di metilene.* — Ha una potenza colorante minore dei precedenti ed impiega molto tempo per colorare; ha invece il vantaggio di non rendersi troppo carico; la sua resistenza è mediocre.

Colore bruno. *Bruno di Bismarck* (Vesuvina). — Colora lentamente. E indispensabile nella microfotografia.

Colore verde. *Verde di metile.* — È spesso impuro.

Chi si occupa dei nostri studi ed ha bisogno di passare in rivista microbi diversi, farà bene di tenere le sostanze coloranti approntate in modo da non dover perdere tempo al momento di ado-

perarle. Senza entrare qui a dire di certi liquidi coloranti fabbricati con formule speciali, diremo per ora soltanto che le sostanze che abbiamo ricordate, si possono usare facendo soluzioni diverse, e cioè: *acquose*, *acquoso-alcooliche*, *alcooliche* e *acquoso-gliceriche*.

A) Soluzioni acquose. — Si prende l'acqua distillata e sterilizzata, e in essa si versa tanta sostanza colorante quanta se ne scioglie. Al momento di adoperarla è mestieri filtrarla, lasciandola cadere goccia a goccia in un vetro d'orologio di già quasi pieno di acqua distillata. Poche goccie bastano perchè l'acqua del vetro da orologio abbia il grado di colorazione voluto. Le soluzioni acquose hanno dei vantaggi, però presentano anche svantaggi indiscutibili. Prima di tutto, ogni volta che si usano, è necessario filtrarle, e ciò porta una perdita di tempo; in secondo luogo bisogna prepararle con frequenza, perchè non si conservano, e quindi è necessario allestirne sempre piccole quantità.

B) Soluzione idro-alcoolica. — D'ordinario la si fa sciogliendo 24 grammi di sostanza colorante in una miscela di alcool ed acqua nelle proporzioni di 15 del primo e 85 della seconda. Questa soluzione ha il vantaggio sulla prima di resistere assai di più senza alterarsi, e di poter essere usata anche senza filtrazione.

C) Soluzione alcoolica. — Le soluzioni alcooliche si preparano sature. Si versa nell'alcool assoluto tanta sostanza colorante, quanta se ne scioglie, e si fa anzi in modo che ve ne sia una piccola parte in eccesso. Noi ci serviamo di que-

ste soluzioni a preferenza delle altre, perchè sono sempre pronte, non occorre filtrarle, e si conservano intatte per un lungo periodo di tempo. Quando si desidera colorare dei preparati, se ne versa qualche goccia nel vetro da orologio contenente acqua distillata.

D) Soluzione idro-glicerica. — Vi sono colori di anilina, i quali non possono essere sciolti nell'alcool, e nemmeno nell'acqua, perchè si guasterebbero troppo presto.

In questi casi si ricorre alla mescolanza di parti eguali di acqua e glicerina ed in essa si fa la soluzione. Ciò vale, per es., per la vesuvina o bruno di Bismarck, quando non venga adoperata per scopo di doppia colorazione, nel quale caso la soluzione si fa semplicemente acquosa.

XVI.

Colorazione semplice dei microbi.

Per ben vedere codesti microrganismi è necessario, come già dicemmo, di colorarli. Ora noi ci occuperemo dei metodi di colorazione generali, cioè di quelli che valgono per la maggior parte di questi esseri, più tardi diremo dei metodi speciali, che si usano soltanto in alcuni determinati casi.

Colorazione a fresco. — Con frequenza interessa di ottenere la colorazione dei microbi senza ucciderli, e ciò principalmente allo scopo di farsi un concetto esatto al più possibile intorno alla

loro forma, ai loro movimenti, ecc. A tale scopo ecco come si procede: levati i microbi coll'ago di platino sterilizzato dal substrato che li contiene, si disseminano in una gocciolina d'acqua distillata posta sul vetrino coprioggetti, e quindi si tinge questa gocciolina con una piccola quantità di sostanza colorante molto diluita e sciolta nell'acqua. Si rovescia quindi il coprioggetti sul vetro portaoggetti, meglio è farne un preparato a goccia pendente, e si esamina al microscopio. I microrganismi appariranno colorati, e se sono mobili conserveranno, almeno per un certo tempo, i loro movimenti. Questo metodo d'esame a mezzo della colorazione a fresco può sostituire nella massima parte dei casi l'esame diretto, il quale se non si tratta di forme piuttosto grandi, come sarebbero i bacilli del carbonchio antracico, il megaterio e simili, riesce faticoso e talvolta poco proficuo.

Colorazione col metodo di Koch. — Diversifica dalla precedente in quanto che i microrganismi si vedono generalmente morti e talvolta leggermente alterati.

Questo metodo consiste nel distribuire in uno strato assai sottile sul vetrino coprioggetti, il materiale contenente i microbi, nel fissare tale materiale, e quindi nel colorarlo. Ecco come si procede: presa coll'ago di platino sterilizzato una piccola quantità della sostanza da esaminare si distribuisce in uno strato finissimo sopra il coprioggetti ben pulito. Generalmente chi è nuovo in queste ricerche mette sul vetrino troppo materiale, ed allora i microrganismi si vedono

troppo stipati. Ora prima di imprendere la colorazione è necessario di fissare il preparato, ossia di rendere insolubile l'albumina, ciò che si ottiene, appena si vede che il vetrino coprioggetti è asciugato all'aria, passandolo per tre volte di seguito con moderata velocità, e colla faccia spalmata rivolta in alto, attraverso la fiamma di una lampada ad alcool o a gaz; quindi lo si lascia cadere in un vetrino da orologio contenente la soluzione colorante, ottenuta nel modo che conosciamo, osservando che la superficie del vetrino portante il preparato stia rivolta in basso. Così si fa sopranuotare per qualche tempo; di solito basta un minuto e anche meno, poscia lo si toglie, si lava facendovi cader sopra uno zampillo di acqua distillata, si asciuga per disopra, e lasciandovi aderente alla superficie inferiore, cioè dove vi è il preparato, un po' di acqua si colloca sul coprioggetti, e si esamina al microscopio. Se un preparato così ottenuto interessa di conservarlo è necessario di renderlo stabile. Per ciò fare si stacca il vetrino coprioggetti dal portaoggetti e lo si asciuga bene all'aria, poscia sul portaoggetti ben pulito si deposita una goccia di balsamo del Canadà,[1] e sopra di essa si depone il preparato, il quale se tenuto all'oscuro, può conservarsi per un periodo di tempo abbastanza lungo.

Con questo metodo di colorazione si procede

---

[1] Il balsamo del Canadà deve essere sciolto nello xilolo, nella trementina o nella benzina, non mai nel cloroformio, che agirebbe da scolorante.

alla ricerca dei microrganismi contenuti in qualsiasi sostanza liquida od anche solida, purchè possa essere ridotta ad uno straterello sottile sopra un vetro coprioggetti. Alla ricerca dei microbi contenuti nell'acqua, nelle urine, nelle feci, nel sangue, nel liquido delle cavità del corpo, si procede nel modo accennato, e così pure spesso per quelli contenuti in organi speciali, come i reni, la milza, il fegato ed altri. Talvolta per ottenere prestamente buone colorazioni con questo metodo, è necessario scaldare oltre i 50° il liquido colorante contenente il preparato, ciò che si fa tenendo sopra la fiamma il vetrino da orologio, od anche, forse in modo più sbrigativo, portando alla fiamma direttamente il vetrino coprioggetti dopo di averlo caricato, dalla parte del preparato, di una certa quantità di liquido colorante che si fa entrare in ebollizione.

Trattandosi però di una ricerca accurata dei microrganismi nel sangue, dobbiamo qui aprire una parentesi per mettere in guardia chi è principiante in questi studi contro eventuali e non difficili errori. Nel sangue di alcuni animali si trovano costantemente, e in quello umano in abbondanza durante alcuni processi morbosi speciali, degli elementi incolori chiamati da Ehrlich *cellule granulose*, che si possono scambiare con microbi, o si possono prendere per tali le granulazioni che derivano dal loro disfacimento. L'autore, a seconda del modo di comportarsi di queste cellule o loro parti in presenza dei colori di anilina, le divise in *acidofile* o *eosinofile, anfofile, basofile, neutrofile*.

A) Granulazioni eosinofile. — Sono grosse, rotondeggianti, rifrangono fortemente la luce, si colorano bene con l'eosina e con gli altri colori di anilina a reazione acida.

Si trovano assai scarse nel sangue umano normale e abbondano nei processi leucemici.

Chi desidera di osservare queste granulazioni, può farlo in qualunque momento.

Prenda una gocciolina di sangue di rana, la comprima fortemente fra due vetrini copriog-getti, quindi esponga i medesimi all'aria finchè sono bene asciutti, e poscia li ponga per circa mezz'ora in una soluzione di eosina.

Ciò fatto li lavi nell'alcool assoluto, li sciaqui nell'acqua distillata, e dopo bene essiccati li chiuda in balsamo del Canadà.

Nel protoplasma dei leucociti si vedranno così le *granulazioni eosinofile* distintamente colorate in rosso.

B) Granulazioni anfofile. — Sono quelle che si colorano tanto coi colori acidi (eosina) di anilina, quanto coi colori basici. Nell'uomo si trovano specialmente nel midollo delle ossa, mentre nelle cavie e nei conigli esistono fra i leucociti normali del sangue.

C) Granulazioni basofile (*Mastzellen* dei Tedeschi). — Si rinvengono nel sangue normale di alcuni animali e mancano nel sangue normale dell'uomo; se ne trovano invece in quello leucemico. Sono appunto queste *Mastzellen* che usando i soliti colori di anilina possono essere scambiate con microrganismi. Altri elementi basofili, ma a granuli molto fini, si rinvengono nei leucociti

del sangue umano normale; questi però per la la loro eccessiva finezza non sono confondibili coi precedenti, nè possono essere presi per microbi.

I granuli basofili si preparano facilmente dal sangue dei ratti bianchi. Si distende una goccia di sangue sopra un vetrino coprioggetti, si lascia essiccare il preparato, e si fissa col solito metodo alla fiamma.

Si pone poscia nella sostanza colorante, si lava in alcool assoluto, si passa in acqua distillata, si asciuga, e si monta in balsamo del Canadà.

D) GRANULAZIONI NEUTROFILE. — Costituiscono la maggior parte dei leucociti nel sangue umano normale. Si tingono coi colori neutri, cioè con quelli ne' quali trovansi due sostanze coloranti, una delle quali agisce da acido, l'altra da base.

Si possono vedere prendendo una goccia di sangue, che si leva colla puntura da un dito previamente lavato con sublimato all'1 $^0/_{00}$ e poi con alcool, e distribuendola in uno straterello sottile sul vetrino coprioggetti. Si lascia essiccare il preparato e quindi lo si immerge per alcuni minuti in una soluzione neutra, che può essere la seguente adoperata da Ehrlich:

Soluzione satura di fuxina acida	parti	5
Soluz. satura di bleu di metilene	»	1
Acqua distillata	»	5

Tale mescolanza si lascia riposare per 4-5 giorni e quindi si filtra.

Tolto il preparato dal liquido colorante si lava in alcool, poscia in acqua, si asciuga e si chiude

in balsamo. Le granulazioni neutrofile appariranno tinte in violetto.

METODO DI COLORAZIONE DEL WEIGERT. — Come il metodo del Koch è il più diffuso per la colorazione dei microrganismi fissati sui vetrini coprioggetti, quello del Weigert lo è per quelli che si trovano nelle sezioni.

Arrivati a questo punto ci sembra utile una piccola digressione, per dire brevemente di queste sezioni e del modo usato per ottenerle.

Tutte le volte che noi possediamo un organo od una parte di esso e vogliamo constatare, se nel medesimo esistano microbi, e vedere come siano distribuiti nell'interno dei tessuti, dobbiamo fare delle sezioni e quindi esaminarle. Il metodo semplice, che più comunemente noi stessi usiamo allo scopo suindicato nel nostro laboratorio, è il seguente.

Estratto dall'animale l'organo che si sospetta infetto (milza, reni, fegato, ecc.), se è grande, lo si taglia a piccoli pezzi; se è piccolo, si lascia intero (p. e. una milza, un rene o il cuore di cavia o di coniglio) e si mette direttamente in una boccetta ben chiusa contenente alcool assoluto. Si deve aver cura che l'alcool sia in abbondanza e che la boccetta si possa chiudere bene. Siccome dall'organo levato di fresco si separa una certa quantità di acqua, sarà utile di collocare sul fondo del vaso della carta da filtro che assorbe l'acqua, che per essere più pesante va al fondo, la quale altrimenti potrebbe difficoltare l'indurimento del pezzo. Procedendo in tal guisa, in capo a 36-48 ore l'organo da esaminare avrà raggiunta

la consistenza necessaria per essere sezionato. A questo punto lo si toglie dall'alcool e si mette in altra bottiglia a tappo smerigliato, nella quale vi sia della celloidina, collodio solidificato, sciolta a consistenza sciropposa, in parti eguali di alcool e di etere; in tale soluzione si lascia il pezzo per 24-48 ore, quindi si leva e si monta sopra un pezzo di sovero. Questa operazione è semplice. Collocato il pezzo da sezionare sul sovero, lo si circonda con una scatoletta di cartone, nella quale si versa la celloidina sciropposa finchè lo ravvolga tutto e lo copra. In pochi istanti la celloidina è già consistente, si leva allora la scatoletta di cartone e si colloca il pezzo così montato in una boccetta contenente alcool al 70-80 $^0/_0$, avendo cura, di solito col mezzo di un peso, che l'organo da sezionare sia immerso nel liquido e da esso circondato. Fatto ciò, in uno o due giorni a mezzo del microtomo si possono eseguire le sezioni. Per togliere da queste le porzioni di celloidina che quasi sempre rimangono aderenti, sarà bene di lavarle in una miscela a parti eguali di alcool e di etere per poi passarle, prima della colorazione, in alcool assoluto.

Per procedere alla ricerca dei microrganismi contenuti nelle sezioni col metodo di colorazione Weigert, si collocano queste per alcuni minuti in una soluzione acquosa all'1 $^0/_0$ di violetto di genziana, e quindi si lavano in acqua leggermente acidulata (acido acetico al $^1/_2$ o all'1 $^0/_0$) allo scopo di scolorare tutto ciò che non sono microrganismi e nuclei, si disidratano per mezza ora od un'ora in alcool assoluto, si rischiarano

in olio di garofani e si montano in balsamo del Canadà. Se le sezioni non sono rimaste troppo intensamente colorate, si può risparmiare il loro passaggio per l'acqua acidulata, essendo l'alcool sufficiente per produrre la necessaria scolorazione.

Preparati veramente belli, perchè restano colorati soltanto i microbi, e si scolora tutto il resto, compresi i nuclei, si ottengono colla modificazione aggiunta a questo metodo dal Koch, modificazione che consiste nel sostituire all'acido acetico il carbonato di potassa, e nel passare quindi le sezioni per una soluzione di questa sostanza molto diluita.

Prima di passare ad altri metodi di colorazione ci permettiamo di fare tre raccomandazioni, e sono:

1.° Che l'alcool assoluto, nel quale talvolta si lasciano le sezioni per un tempo abbastanza lungo, assaggiato alle carte di tornasole non reagisca acido, nel qual caso potrebbe portare la scolorazione completa del preparato. Per esserne garantiti è sempre bene che sul fondo della bottiglia che lo contiene vi sia una certa quantità di idrato di calce.

2.° Che le sezioni non si lascino troppo a lungo nell'olio di garofani, poichè mentre da una parte è questa una sostanza che agisce da ottimo rischiarante, è d'altro canto uno scolorante pronto ed energico.

3.° Che i preparati sieno montati in balsamo del Canadà, sciolto nell'essenza di trementina, nello xilolo o nella benzina, mai nel cloroformio.

Metodo di colorazione del Gram. — Un metodo di colorazione, un po' complicato, ma che ci dà dei preparati di una bellezza sorprendente, è quello appunto di cui ora parliamo. I microrganismi si vedono tanto nelle sezioni, quanto nei preparati sui vetrini coprioggetti, distintamente colorati in azzurro, mentre il resto del preparato è quasi scolorato, oppure, valendosi di una doppia colorazione, tinto diversamente.

Approntata una soluzione concentrata di acqua di anilina, ciò che si fa mescolando in una bottiglia 4 gr. di olio di anilina (anilina basica o fenilamina, che si ottiene per riduzione dalla nitrobenzina) con 100 di acqua, se ne filtra in un vetro da orologio una certa quantità, quindi si aggiungono alcune goccie di soluzione alcoolica concentrata di violetto di genziana o di metile, e in questo liquido colorante si collocano per 2-3 minuti sia le sezioni, sia i preparati sui coprioggetti che si vogliono colorare. — A questo punto avvertiamo che è sempre utile per risparmio di tempo di tenere approntata l'acqua di anilina in una bottiglia oscura, chiusa invece che da un turacciolo da un imbutino di vetro portante il filtro di carta. Passato il tempo indicato si leva l'oggetto dal predetto liquido colorante e lo si pone per 1-2 minuti in altro vetro da orologio contenente una soluzione iodica (liquido di Lugol) preparata nel seguente modo:

Iodio	parti	1
Ioduro potassico . . .	»	2
Acqua distillata . .	»	300

Il preparato in questa soluzione cambia rapidamente di tinta, cioè mentre prima era azzurro intenso, diventa bruno, quasi nero. Si toglie allora dal liquido iodo-iodurato e si colloca in altro vetrino ripieno di alcool assoluto, dove ha luogo una decolorazione molto evidente, che si farà anche più manifesta, se dopo un po' di tempo si passerà in altro vetrino con nuovo alcool. Finalmente si fa agire sul preparato l'olio di garofani per pochi istanti, altrimenti nasce una scolorazione completa, e si monta in balsamo del Canadà. I microrganismi si vedranno al microscopio di una bella tinta azzurra-oscura in un campo giallo pallido uniforme.

Più belli riescono i preparati, se dopo scolorati in alcool si passano per un paio di minuti nella vesuvina — questa sostanza si tiene sciolta nell'acqua e si filtra ogniqualvolta la si adopera — quindi nell'alcool, olio di garofani e balsamo del Canadà. In questo caso si ottiene una colorazione doppia, cioè si vedranno i microrganismi tinti di un violetto intenso ed i nuclei ed il resto del fondo, in bruno.

Metodo di colorazione Koch-Loeffler. — Un altro metodo di colorazione molto usato, specialmente per tingere i bacilli della morva e del tifo, è quello di cui ora teniamo parola. La soluzione colorante, tenendoci alla formula del Loeffler, è la seguente:

Soluzione alcoolica concentrata di bleu di metilene cm. 30.

Soluzione di potassa (proporzione 1 a 10,000) in acqua distillata cm. 100.

I preparati si collocano per qualche minuto nel vetro da orologio contenente la sostanza colorante, che si filtra volta per volta, quindi si lavano per pochi istanti nell'acido acetico al $^1/_2$ $^0/_0$, poscia si tengono per 5 minuti nell'alcool al 50 $^0/_0$ circa, e finalmente per un quarto d'ora nell'alcool assoluto. Rischiarati poi nell'olio di cedro, si montano in balsamo del Canadà.

Esposti così i metodi più usati di colorazione semplice, veniamo ora a dire brevemente dei metodi di colorazione doppia.

XVII.

Colorazione doppia dei microbi.

La colorazione doppia è preceduta da una colorazione semplice e diffusa. Per ottenerla si trae profitto del fatto che i microbi, i nuclei, il protoplasma cellulare, la sostanza intercellulare, ecc., hanno diverso potere di fissare sostanze coloranti. Ottenuta con una data sostanza colorante la tinzione dei microbi, noi possiamo conservarla, mentre con liquidi speciali possiamo scolorare i nuclei, e tutto il resto, e quindi di nuovo con altra sostanza colorante riprodurre una o più altre colorazioni. Il Weigert è stato il primo a trovare che i microrganismi hanno grande affinità per il violetto di genziana e poca per il carmino, e che viceversa i nuclei hanno grande affinità per quest'ultimo e poca per il primo. Il suo

metodo, che ora esporremo, è appunto fondato sopra questa osservazione.

Metodo di Weigert per le sezioni. — La colorazione doppia con questo sistema di tinzione si ottiene col violetto di genziana e col picrocarmino. Colorate le sezioni nel violetto di genziana (soluz. acqu. 1 %), si lavano per alcuni minuti nell'alcool assoluto, quindi nell'acqua, poscia si passano nel picrocarmino. — Questa sostanza si può comperarla già approntata, è una polvere cristallina di color rosso d'ocra, che si usa in soluzione nell'acqua distillata all'1 %. Alcuni preferiscono prepararla da sè, e gli autori dànno all'uopo parecchie formule; noi ci terremo a quella del Bizzozero, che crediamo la migliore. Ecco come si procede: In un recipiente si scioglie mezzo grammo di carmino puro in 3 grammi di ammoniaca e 50 di acqua distillata; in altro recipiente si scioglie mezzo grammo di acido picrico in 50 grammi di acqua. Quest'ultima soluzione viene versata a poco a poco nella prima, la quale si mette ad evaporare lentamente a bagno-maria. Dopo un certo tempo il liquido non manda che un leggero odore ammoniacale ed è ridotto in volume a circa una metà; a questo punto si lascia raffreddare, vi si aggiungono 10 grammi di alcool puro, e si versa in una bottiglia ben chiusa per adoperarlo quando se ne ha bisogno, ciò che si fa senza precedente filtrazione. — L'oggetto è lasciato mezz'ora in questa sostanza colorante, poi si leva, si lava in acqua, si disidrata in alcool assoluto, si rischiara in olio di garofani, e si monta in balsamo del Canadà.

All'esame microscopico si vedranno i microrganismi colorati in violetto ed i nuclei in rosso.

Metodo di Soubbotine. — Mentre il metodo precedente ha un'importanza nella doppia colorazione delle sezioni, il presente ha un valore per la colorazione doppia dei preparati distribuiti in uno strato sottile sui vetrini coprioggetti. I preparati a secco fissati lavandoli in una soluzione di acido cromico all'1 per 200, si passano in acqua distillata, e si immergono in una soluzione acquosa all'1 °/₀₀ di verde di metile per una o due ore. Si portano quindi per mezz'ora in acqua leggermente acidulata per la scolorazione, si lavano in acqua distillata, e si passano per alcuni minuti nel picrocarmino in soluzione piuttosto allungata. Ciò fatto si lavano di nuovo in acqua distillata, si asciugano e si chiudono in balsamo.

All'esame microscopico i microbi appariscono di un bel verde, i nuclei si vedono rossi, e così le granulazioni protoplasmatiche, mentre il fondo assumerà una tinta rosea.

Colorazione delle spore. — È noto che le spore sono corpicciuoli ovali o rotondi, piccoli e rinfrangenti la luce, i quali si possono trovare tanto nell'interno dei microbi, quanto al di fuori di essi. Si distinguono facilmente, anche nei preparati colorati coi soliti metodi di tinzione, perchè di solito non assumono colorazione, carattere spesso sufficiente per stabilire la loro presenza.

Recentemente però, a merito di parecchi autori, si è arrivati a tingerle. All'uopo si pone il vetrino, che porta delle spore, per un'intera ora in una soluzione concentrata e calda di Ziehl,

la quale è composta come segue:

Acqua distillata . .	Gr.	100
Acido carbolico cris. .	»	5
Alcool	»	10
Fucsina	»	1

Il Buchner è giunto a dimostrare che esse non si colorano coi procedimenti ordinarii, perchè si conservano ancora vive, e in tale stato la loro membrana avvolgente non si lascia attraversare. Egli perciò procura, per ottenere l'intento, di ucciderle per mezzo del calore, oppure per l'azione dell'acido solforico concentrato.

Se si distribuisce sul vetrino coprioggetti del materiale contenente spore, e quindi lo si colloca in sterilizzatrice a 200° per un'ora circa, si può poi ottenere una colorazione assai evidente. Così del pari se i preparati sul vetrino coprioggetti si immergono per 15 secondi nell'acido solforico concentrato e poi si lavano in acqua, si prestano benissimo a ricevere una distinta colorazione. Facciamo subito osservare che fra le sostanze coloranti è da preferirsi il *bleu di metilene*, e che mentre le spore, come si è detto si colorano bene, le forme vegetative, se ve ne sono, rimangono incolori o quasi.

Vi è però un metodo, diverso dai precedenti, di ottenere l'uccisione delle spore senza che le forme vegetative perdano la proprietà di assumere i colori di anilina.

Valendosi di esso si può avere una colorazione doppia, cioè tale che le spore presentino una tinta ed i bacilli un'altra. Se si passano i ve-

trini coprioggetti portanti bacilli e spore 8-10 volte attraverso la fiamma ad alcool oppure a gaz, e successivamente si immergono per alcuni minuti nella fucsina approntata in acqua di anilina, che si scalda fin verso i 50°, poscia si lavano in alcool, quindi si ripassano per alcuni istanti in una soluzione acquosa di bleu di metilene per poi lavarli ancora in alcool, si hanno le spore tinte in rosa ed i bacilli colorati in bleu. Anche per le colorazioni semplici delle spore è più comodo valersi del passaggio del preparato per 8-10 volte attraverso la fiamma, piuttostochè della temperatura di 200°.

I metodi di colorazione delle spore servono anche per stabilire, se esse sono ancora in vita o meno.

XVIII.

Metodi speciali di colorazione.

Come è vero che vi sono microrganismi che hanno eguale grado di affinità per diverse sostanze coloranti, è altrettanto vero che altri ve ne sono, e molti, che rimangono tinti con un dato colore di anilina piuttostochè con un altro; e finalmente ve ne hanno di quelli che, per rimanere colorati, esigono e speciali sostanze coloranti e speciali metodi di colorazione. Forse molti microbi, cause di malattie, non ci sono ancora noti, perchè non abbiamo saputo trovare il modo

di colorarli, e all'osservazione diretta per la loro trasparenza sono sfuggiti alle nostre indagini. Quando entreremo a dire dei singoli microrganismi, indicheremo con quale sostanza colorante, e con quale metodo di colorazione riesca meglio tinta la forma di cui parleremo. Intanto qui è necessario di dire ancora di qualche metodo di colorazione speciale, cioè da usarsi per delle forme che diversamente trattate, ossia coi metodi di colorazione generali, o si tingerebbero male, oppure resterebbero affatto scolorate ed invisibili.

METODO KOCH-EHRLICH PER LA PREPARAZIONE DEI BACILLI TUBERCOLARI. — Lasciando a parte la storia e le diverse modificazioni proposte dagli autori per ottenere la colorazione dei bacilli tubercolari, ecco uno dei metodi migliori e più usati.[1]

Si filtra, come per il metodo di Gram, dell'acqua di anilina che si raccoglie in un vetrino da orologio, e si versano in essa poche goccie di soluzione alcoolica concentrata di violetto di metile o di genziana, preferibilmente del primo.

Nel liquido di colorazione così approntato si collocano sia i preparati sui vetrini coprioggetti, sia le sezioni, e vi si lasciano per 20-24 ore. La tinzione dei primi però può essere accelerata di molto riscaldando il liquido colorante, nel quale

[1] Il nuovo metodo di Pittion e Roux (*Gazette Médicale de Paris*, 28 maggio 1888) per colorare rapidamente i bacilli in discorso e quell'altro di Lubimoff (*Meditzînskoe obozrenie* marzo 1888) non hanno ancora ottenuta la diffusione necessaria, perchè noi possiamo consigliarli.

nuota il preparato fin verso i 50°, cioè finchè incominciano a sollevarsi dal fondo delle bollicine di aria. Procedendo in tal guisa, in 10 minuti i preparati a secco sono già colorati.

Trascorso il tempo necessario, preparati e sezioni si immergono in una soluzione di acqua e acido nitrico puro (3 parti della prima e 1 parte del secondo) per pochi istanti. I preparati sui coprioggetti basta passarli per detta soluzione una o due volte rapidamente; le sezioni vi si lasciano per mezzo minuto circa.

Dal liquido acido gli uni e le altre si portano in alcool al 60 °/₀ e si lavano. Dopo ciò i primi possono essere esaminati al microscopio, mentre le seconde bisogna prima disidratarle in alcool assoluto e rischiararle in olio di cedro, oppure di trementina o di bergamotto.

Se però si vogliono ottenere preparazioni veramente belle, è necessario di ricorrere alla doppia colorazione, nel qual caso i bacilli presenteranno una tinta, ed i nuclei ne mostreranno un'altra. Siccome noi abbiamo adoperato per primo liquido colorante il violetto di metile o di genziana, ora ci serviremo della vesuvina; se prima si fosse usata la fucsina, si avrebbe un bel fondo di contrasto col bleu di metilene.

Lavati i preparati e le sezioni, come già abbiamo detto, in alcool al 60 °/₀, si colorano per alcuni minuti nella soluzione acquosa di vesuvina filtrata, quindi si lavano di nuovo in alcool al 60 °/₀, si disitratano in alcool assoluto, e le sezioni si rischiarano in uno degli oli essenziali già ricordati. Se si vogliono conservare si montano in balsamo.

La ricerca dei bacilli tubercolari si fa generalmente negli sputi, e qui è necessario di avvertire che il materiale è bene prenderlo fra le masse giallognole e attaccaticcie degli stessi, e deve poi venire distribuito sul vetrino coprioggetti in uno straterello assai sottile. Se si hanno masse caseose e nodi tubercolari, sarà utile per ottenere delle buone preparazioni di schiacciarli fra due vetrini coprioggetti, finchè sugli stessi la sostanza sia distribuita in uno strato esiguo ed uniforme.

Per la ricerca dei bacilli negli organi si può ancora procedere col metodo dei preparati sui vetrini coprioggetti, levando dai detti organi, polmoni, reni, ecc., del liquido in essi contenuto, oppure, se interessa di vedere la disposizione dei microrganismi nell'interno dei tessuti, si ricorre all'indurimento dei pezzi in alcool assoluto e poscia all'esame delle sezioni colorate come già abbiamo detto.

Un metodo di colorazione dei bacilli tubercolari, che vale per i preparati sui vetrini coprioggetti e il quale è facile, semplice e in pari tempo rapido, è quello consigliato da Loomis. Noi lo usiamo da qualche tempo con vantaggio.

Si prepara una soluzione alcoolica satura di fucsina, e questa la si versa dopo 24 ore in una soluzione acquosa al 5 $^0/_0$ di acido fenico. Noi prepariamo in una bottiglia 50 grammi di soluzione di fucsina ed in altra bottiglia di capacità doppia 50 gr. di soluzione di acido fenico, quindi versiamo in quest'ultima tanta soluzione di fucsina quanta ne occorre per ottenere una tinta intensamente rossa.

In altra bottiglia della capacità di 100 gr. si prepara la soluzione di Fraenkel così formata: soluzione alcoolica concentrata di bleu di metilene gr. 30, acqua distillata gr. 50, acido nitrico, 20.

Ottenute queste due soluzioni, che si conservano poi per molto tempo, il processo di colorazione procede in modo assai lesto. Distribuito il materiale come di consueto sul coprioggetti, lo si fa disseccare e si fissa, quindi si pone il vetrino nella soluzione di fucsina dentro un vetro da orologio, dove si fa bollire il liquido per qualche istante, si toglie il preparato, si lava in acqua e si tiene per alcuni secondi nel liquido colorante di Fraenkel, si lava di nuovo in acqua e si esamina. In meno di 2 minuti tutto il processo di colorazione è compiuto, e si vedranno i bacilli tubercolari nettamente colorati in rosso, mentre il fondo è distintamente azzurro.

Alcuni, anzichè riscaldare il coprioggetti nel vetro da orologio contenente la soluzione di fucsina, preferiscono di esporlo alla fiamma direttamente dopo di averlo caricato, dalla parte dove vi è il preparato, che rimane rivolto in alto, della sostanza colorante, la quale viene così fatta bollire fino a completa evaporazione.

Metodo di Baumgarten per i bacilli della lebbra. — I bacilli della lebbra coi metodi di colorazione che abbiamo spiegato più sopra rimangono colorati egualmente bene dei bacilli tubercolari, coi quali concordano quasi esattamente anche nella morfologia. Riconoscere gli uni dagli altri sarebbe in molti casi difficile, se il Baum-

garten non avesse trovato un metodo di colorazione che li distingue nettamente e che qui esponiamo in riassunto.

Si pongono i preparati a secco per 6-7 minuti, le sezioni per 12-15, in un vetro da orologio contenente una soluzione idro-alcoolica di fucsina, formata come di consueto, e poscia i primi si scolorano per un quarto di minuto, le seconde per mezzo minuto in una miscela acida così costituita:

Acido nitrico puro . . .	parti	1
Alcool assoluto	»	10.

Ciò fatto, si lavano ripetutamente in acqua distillata, e si ritingono con una soluzione acquosa di azzurro di metilene, poscia i preparati sui coprioggetti si lavano in acqua e si esaminano, le sezioni si disidratano in alcool assoluto, si rischiarano coll' *olio di bergamotto* e si montano in balsamo. I bacilli della lebbra appariranno colorati in rosso, mentre il fondo presenterà una bella tinta azzurra. Nel medesimo tempo e con questo sistema di colorazione i bacilli tubercolari non avrebbero assunto alcuna tinzione.

Eguale risultato si ottiene procedendo con un altro metodo: Si pongono le sezioni per 2-3 minuti nel liquido di Ehrlich, la cui sostanza colorante sia la fucsina, si scolorano colla soluzione acida già ricordata, si lavano, si tingono di nuovo con bleu di metilene, si disidratano, si diafanizzano, e si montano in balsamo. Come nel caso precedente, i bacilli della lebbra si vedranno colorati, mentre quelli della tubercolosi resteranno incolori.

I bacilli della lebbra dunque si colorano più facilmente e in un tempo minore di quelli della tubercolosi.

In appendice ai metodi di colorazione che abbiamo esposti, aggiungeremo poche cose sul modo migliore di tingere delle forme da infezione, le quali hanno poca affinità per i colori di anilina quando si trattano con taluno dei metodi generali di colorazione, che per esse devono venire leggermente modificati.

Colorazione dei bacilli del tifo. — Si possono colorare in tanti modi; noi usiamo il liquido di Löffler, nel quale, se si tratta di sezioni, le lasciamo per 24 ore. Seguiamo il metodo già descritto, omettendo però il passaggio per l'acido acetico.

Colorazione dei micrococchi della pneumonite di Friedländer. — In preparato a secco sui vetrini coprioggetti si tingono nella soluzione acquosa di genziana all'1 %, oppure nel liquido di Ehrlich formato con acqua di anilina e poche goccie di soluzione alcoolica concentrata di violetto di genziana; in un caso e nell'altro si riscalda il vetro da orologio, contenente liquido e preparato, fino verso i 50° e si lascia per alcuni minuti. Ciò fatto si lava in acqua ed in essa si fa l'esame al microscopio, oppure si asciuga bene e si monta in balsamo del Canadà.

Per ottenere la colorazione di quelli che si trovano nelle sezioni di tessuto polmonare, si ricorre al metodo di Gram, avendo cura di lasciar agire la sostanza colorante per 12-24 ore. Se però si desiderano ben tinte le *capsule*, è necessario

ricorrere al *metodo di Friedländer*. In questo caso le sezioni si pongono nel seguente liquido per 24 ore:

Soluzione alcoolica concentrata di violetto di genziana . .	Cent.	50
Acqua distillata.	»	100
Acido acetico	»	10

Quindi si tolgono, si scolorano per 1 minuto nella soluzione all'1 % di acido acetico, si disidratano in alcool assoluto, si diafanizzano con olio di garofani e si montano in balsamo.

XIX.

Autopsia degli animali ed esperimenti d'innesto.

Concepito il sospetto, che un dato animale sia morto di malattia infettiva, si ricorre alla necroscopia, tenendosi rigorosamente alle regole dell'antisettica per impedire l'importazione nel cadavere di nuovi microrganismi. Bisognerà quindi prendere l'animale, collocarlo supino, e fissatolo, tagliargli i peli lungo la linea mediana ventrale, quindi lavarlo con sublimato corrosivo all'1 ‰ nella direzione del taglio che si vuol praticare. A questo momento è necessario di tenere in pronto parecchi ferri sterilizzati, poichè per procedere con rigore, è mestieri che si cambi il bistorino ad ogni nuova incisione che si fa. Quando si sta per giungere in cavità, si devono usare i

massimi riguardi e praticare soltanto delle piccole finestre in corrispondenza degli organi, cuore, polmone, fegato, reni, milza, da esaminare. Con questi non si avranno mai rigori di antisettica sufficienti, specialmente se da essi intendiamo di levare del materiale, oltre che per allestire preparati, anche per fare delle colture.

Tale materiale si può togliere praticando dei tagli con ferri bene sterilizzati od anche in modo più semplice penetrando direttamente nell'interno dell'organo con l'ago o l'ansa di platino. Il trasporto si fa in substrati nutrienti che si tengono pronti, oppure anche, e spesso contemporaneamente, negli animali.

Se nei mezzi di nutrizione non si sviluppano le sole forme che già si videro nei preparati al microscopio, si fanno piastre per ottenere le colture nette. Questo metodo però non potrà essere addottato per quei microrganismi (bacilli tubercolari) che non si sviluppano in gelatina peptonizzata o in quella all'agar-agar.

Aggiungiamo ancora che le autopsie devono essere eseguite a breve distanza dalla morte dell'animale, spesso anzi è bene ucciderlo quando lo si vede prossimo a morire, e che di ogni organo che esaminiamo è utile di collocarne un piccolo pezzo in alcool assoluto per poterne fare, occorrendo, delle sezioni. Se l'organo in esame è stato estratto da qualche tempo, bisogna sterilizzarlo bene all'esterno con acido fenico al 5 $^0/_0$ o con sublimato all'1 $^0/_{00}$, o meglio ancora con tutte e due queste sostanze, usandole nell'ordine in cui le abbiano citate. Si fa poscia un taglio netto

che penetri fino verso la sua metà, e quindi un altro taglio perpendicolare al primo, e soltanto da questo si prende il materiale per i diversi scopi succitati.

Trovata costantemente una data forma microbica in uno o più organi, e in una certa abbondanza, si può ragionevolmente sospettare che la malattia sia di origine infettiva, e che i microrganismi rinvenuti sieno la causa del male. Non bisogna però correre troppo coll'immaginazione, nè si dovranno trarre deduzioni premature.

Per procedere con rigore, oltre che preparati si faranno delle colture, e ogni qualvolta sarà possibile, si riprodurrà l'infezione negli animali, importando in essi parti di colture nette, e tali che non contengano più traccie di sostanze provenienti direttamente dall'animale ammalato o morto. Prima però di questa prova, di solito si tenta l'altra dell'infezione, importando negli animali direttamente del materiale fresco che, a seconda dei casi, sarà sangue, siero, pus, ecc., nel qual materiale più che altrove si son trovati o si ritengono abbondanti i microbi che si sospettano patogeni. Quando si può, l'innesto si fa in animali della stessa specie e varietà, e possibilmente corrispondenti anche per età a quelli da cui si ebbero le colture; soltanto dopo e per ragioni di studio comparativo si infettano animali diversi, talvolta svariatissimi.

Per alcune infezioni che colpiscono l'uomo soltanto, e in modo sempre grave, questa prova non si può fare, e allora la *patogeneità* del microrganismo è più dedotta che dimostrata.

Sul modo di comportarsi degli animali di fronte ad alcuni microrganismi patogeni abbiamo già detto più sopra (pag. 23) a proposito delle predisposizioni. Ora aggiungiamo che per l'innesto od infezione artificiale si deve tenere la stessa via già tenuta dall'infezione naturale; se tale via non ci è nota, si procura di scoprirla, e a questo scopo si fanno parecchi tentativi. È del resto un fatto che in molti casi noi osserviamo delle infezioni senza poter dire, per quale via il microbio infettante sia penetrato; è un fatto altresì che talvolta si ha infezione artificiale soltanto importando il microrganismo per una via determinata, mentre per altre forme succede che esse, comunque introdotte, si sviluppano estrinsecando la forma morbosa.

Gli innesti, come abbiamo già accennato (pagina 119), si fanno sotto la cute, nelle cavità sierose, nella camera anteriore dell'occhio, talvolta anche per le vie respiratorie o digerenti o per iniezione intravenosa. È inutile il dire che l'antisettica deve essere osservata scrupolosamente, che cioè si deve impedire in tutti i modi che nella regione inoculata penetrino microrganismi diversi da quelli che s'importano a scopo d'innesto; che quindi tutti gli strumenti saranno rigorosamente sterilizzati.

Innesto sottocutaneo. — È quello, a cui più comunemente si ricorre. Tagliati e rasi i peli dell'animale nelle regioni scelte, fatta una sterilizzazione un po' estesa lavando la pelle con sublimato all'1 ‰, e quindi con alcool assoluto, si pratica una saccoccia sottocutanea ed in essa si

importa il materiale infettante, usando l'ansa di platino, od un bistorino, oppure una lancetta.

Meglio si riesce colla siringa; usando questa si assorbe in essa il materiale di coltura stemperato in acqua distillata, e in luogo di scavare la saccoccia sotto la cute, si fa penetrare l'ago in quest'ultima e così si inietta una certa quantità del contenuto. Tutti due i metodi sono solleciti, questo secondo è però più sicuro. La regione che si sceglie è diversa a seconda dei casi. Nei topi si preferisce la base della coda al lato dorsale. Le cavie si innestano pure di solito nella stessa regione, però qualche volta si sceglie il lato ventrale, od anche la faccia interna delle coscie.

Innesto nelle cavità sierose. — Previo il taglio dei peli e la sterilizzazione della parte, si importa, a seconda dei casi, il materiale da infezione nel cavo pleurico o peritoneale a mezzo della siringa, ciò che si fa infiggendo l'ago nella regione scelta finchè si sente che cessa ogni resistenza. Talvolta si ricorre ad altro metodo, cioè si pratica una piccola finestra finchè si arriva in cavità, si importa la sostanza infettante coll'ago o coll'ansa di platino, e quindi si chiude con una cucitura.

L'infezione artificiale per la via degli organi digerenti e respiratori dovrebbe essere tentata su larga scala, poichè è certo che in molti casi l'infezione avviene per una di queste vie (Vedi pag. 27-28).

Nicati e Rietsch, per provocare il colera nelle cavie, importarono direttamente nel duodeno, pra-

ticando un taglio alla regione ventrale, le colture di *Bacillus komma*; ma per procedere con questo sistema occorre molta pratica, altrimenti l'animale muore assai facilmente di peritonite. Più facile è invece l'introduzione della coltura nello stomaco valendosi di una sonda esofagea; in molti casi del resto i microrganismi si stemperano in brodi o si disseminano sulle patate o sul pane, e vengono ingeriti dall'animale senza alcuna difficoltà.

Gli innesti intravenosi e nella camera anteriore dell'occhio si usano pure in alcuni casi; quando si proceda bene, dànno buoni risultati.

XX.

Esame dell'acqua, dell'aria e del terreno.

Prima di porre termine alla parte generale di questo lavoro, diremo delle norme da seguirsi nella ricerca e nella determinazione dei microbi contenuti nell'acqua, nell'aria e nel terreno.

Acqua. — L'importanza che ha questo elemento nella diffusione delle malattie infettive è troppo nota, perchè noi qui c'intratteniamo a parlare in proposito, tanto più che già altrove (pag. 47) abbiamo sfiorata la questione. Ora c'interessa di additare la via da seguire in caso di una analisi batteriologica, che non deve mai essere trascurata, quando vi è il sospetto che in un'acqua, la quale serve a scopo alimentare, vi pos-

sano essere delle forme patogene, come succede nei casi di epidemie localizzate o diffuse. L'analisi chimica, se è sufficiente a dirci se un'acqua è in massima potabile o meno, davanti al sospetto che in essa acqua vi possano essere microbi specifici, causa di malattie da infezione, non ha alcun valore; anzi la chimica può presentarci un'acqua come eccellente, mentre in essa possono pullulare delle forme patogene.

Quando si richiede lo studio esatto di tutte le forme di microbi contenute in una determinata acqua, è necessario di recarsi sul sito per la raccolta con recipienti di vetro: matracci, tubi di assaggio, ecc., ben lavati, sterilizzati e chiusi. La chiusura si farà nel miglior modo possibile, di solito coi tappi di cotone sterilizzato, che si circondano all'esterno con un berretto di gomma o con carta pecora tirata molto aderente.

Si può anche spingere il tappo di cotone finchè non sporga più dal vetro, e quindi coprirlo con alcune goccie di ceralacca. Quando è possibile, si prendano dei vasi di vetro tirati in punta, che poi si chiudono a fuoco.

Per la spedizione a distanza si prestano bene anche le bottiglie a tappo smerigliato, alle quali per maggior precauzione si applicano dei berretti sterilizzati ed impermeabili.

Fatta così la raccolta, ogni qualvolta si posseggano i mezzi necessari sul sito, è pur utile di mescolare direttamente in tubi di assaggio, od in altri maggiori, contenenti una quantità misurata di gelatina che si fluidifica, una determinata quantità di acqua, e quindi girare sopra sè stesso

il tubo, per far sì che la gelatina si solidifichi in uno straterello uniforme tutto all'ingiro. In tal modo si hanno tutti i vantaggi che ci dànno le piastre con le migliori garanzie. Quando si sviluppano le colonie nei tubi, si possono esaminare al microscopio a piccolo ingrandimento.

Appena l'acqua è giunta in gabinetto, è necessario di studiarla; altrimenti, lasciandovela qualche tempo, si hanno poi dei risultati modificati, cioè alcune forme, specialmente se la temperatura è favorevole, possono moltiplicarsi, mentre altre o rimangono quali sono, oppure si alterano e scompariscono. L'esame batteriologico delle acque richiede tempo e lavoro; se non è fatto secondo tutte le buone regole, dà risultati molto incerti ed inservibili.

Aperto un primo vaso, s'incomincia dallo studio di una goccia d'acqua sia coll'esame diretto, sia a mezzo della colorazione. Siccome però la sola morfologia non dà mezzi sufficienti per il riconoscimento dei microbi, sarà necessario di ricorrere in pari tempo alla disseminazione delle forme contenute nell'acqua sulle piastre di gelatina; in questo modo si ha anche il vantaggio di stabilire, almeno approssimativamente, la quantità di microrganismi per ogni determinata quantità di acqua, di più ci è concesso di poter studiare la loro biologia.

Approntate, come di consueto, le campane di vetro sterilizzate, e così le lastre, s'incomincia col levare dal vaso a mezzo di una pipetta sterilizzata e graduata una determinata, e sempre piccola, quantità di acqua, che prontamente si

lascia cadere in un tubo di assaggio contenente 10 ccm. di gelatina appena fluidificata a 30° circa. Si chiude, si sbatte per qualche istante, e avvenuta una distribuzione uniforme dei microrganismi, si versa la gelatina sulla lastra e la si distribuisce nel modo solito. Di queste piastre se ne fanno alcune ed altre si tengono per il confronto. Cioè, siccome durante l'operazione qualche germe cade facilmente nelle campane, così

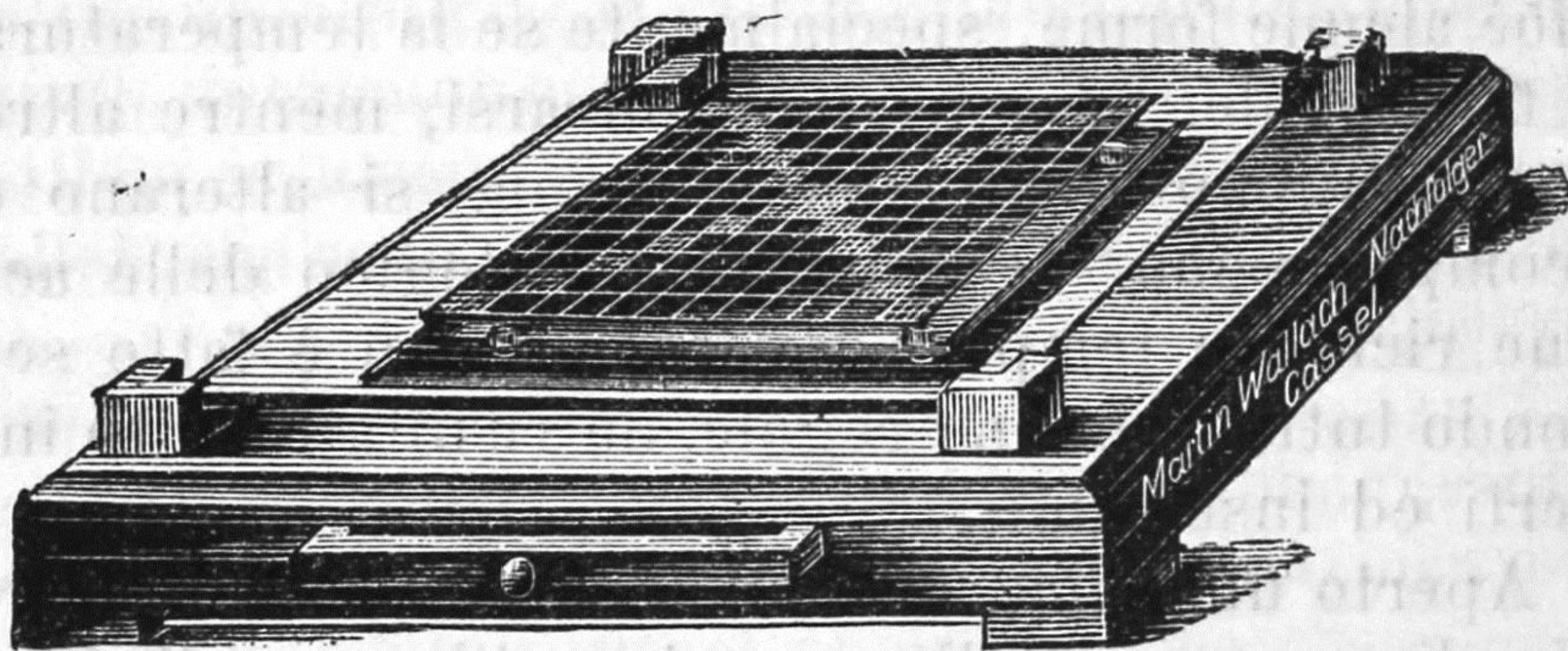



Fig. 23. — Apparato conta-colonie di Wolfhügel.

per controllo si versa sopra un paio di lastre di vetro la gelatina come d'ordinario, ma invece di disseminarla di microrganismi si lascia sterile. Dallo sviluppo differente che si ottiene fra le gelatine disseminate e quelle di controllo è facile di formarsi un concetto della quantità, almeno relativa, dei microrganismi contenuti nell'acqua.

Appena le gelatine versate sulle lastre sono consolidate, se la stagione non è tale che nell'ambiente in cui si trovano si abbia la temperatura di 18°-20° C., è necessario collocarle nel termostato.

Sviluppate le colonie, possiamo esaminarle al

microscopio a piccolo ingrandimento, possiamo allestire dei preparati, e farne colture nei diversi mezzi di nutrizione. Col mezzo di un apparecchio apposito, *detto conta colonie* (fig. 23), si può rilevare il numero approssimativo delle colonie, e quindi dei microrganismi contenuti nell'acqua adoperata per la disseminazione. L'apparecchio è essenzialmente una rete divisa in centimetri quadrati. La lastra di vetro colla gelatina viene posta sopra di questa, e allora si conta la quantità di colonie contenute in un certo numero di divisioni, se ne deduce la media, e questa si moltiplica per l'estensione totale della superficie della gelatina.

Aria. — Le ricerche fatte da parecchi autori c'insegnano, che nell'aria sono sospesi molti microrganismi, e molti dei loro germi, in numero però variabile a seconda delle località, delle stagioni, delle condizioni atmosferiche, e così via. Nell'interesse dell'igiene si è pensato di raccogliere questi microrganismi e di studiarli separatamente. I metodi dapprima usati per tale scopo, benchè assai ingegnosi, sono ora sostituiti da altri più razionali e più pratici, senza però che nemmeno questi sieno del tutto perfetti.

I microrganismi o le loro spore, benchè esseri assai piccoli, hanno pure un certo peso, e quando l'aria è quieta, o pressochè tale, tendono a depositarsi; su questo fatto è fondata la loro ricerca. Quando noi abbandoniamo a sè, fuori di un ambiente sterilizzato, della polenta, delle patate, della gelatina o qualsiasi altra sostanza organica, in breve la troviamo invasa da microbi dell'aria

che vengono a depositarsi sopra di essa. La scoperta dei mezzi di nutrizione solidi e trasparenti fu di grande vantaggio anche per questo genere di ricerche, e si può dire anzi che i recenti progressi fatti in questo ramo degli studi poggiano sopra di essa. Il Koch è stato il primo a fare le ricerche dei microrganismi dell'aria a mezzo della gelatina, valendosi di un apparecchio semplice e in pari tempo molto ingegnoso. Esso è formato di un cilindro di vetro alto cent. 18, largo 6, il quale porta sul suo fondo una scatola, pure di vetro, che misura cent. 1 in altezza e 5 $^1/_2$ in larghezza: questa scatola è attaccata ad una lastra di ottone, per cui può essere col suo mezzo levata e rimessa in posto.

Per procedere alla ricerca dei microrganismi dell'aria con questo apparecchio, si deve prima di tutto avere la cura di sterilizzarlo, ben chiuso con tappo di cotone, a 150° C. Ciò fatto si fondono 5 ccm. di gelatina e si versano nella scatola sopra descritta, si rimette il tappo e si porta sul sito dove si desidera di fare la raccolta dei microrganismi. L'apparecchio appena levato il piumacciolo di cotone è in funzione, e lo si lascia tranquillo per 4-6 ore. Dopo di ciò si richiude e si porta in termostato a 18°-20° C., nella state si può abbandonarlo alla temperatura dell'ambiente. Osserviamo che di questi vasi se ne pongono contemporaneamente in azione da 15 a 20; che è necessario portare sul sito una campana sterilizzata per collocarvi dentro i tappi di cotone; e che è utile, specialmente procedendo alla ricerca dei microrganismi patogeni, di unire alle gelatine comuni del siero di sangue.

Dopo 24-48 ore la gelatina contenuta nella scatola è coperta di colonie che si possono studiare, contare e trasportare in tubi di assaggio.

Un modo semplice di raccogliere i microrganismi dell'aria è anche quello di allestire delle piastre di gelatina in campane sterilizzate come al solito; quando si vuole procedere alla ricerca esperimentare, si levano i coperchi per 4-6 ore di seguito, quindi, richiuse le campane, si collocano ad una temperatura di 18°-20° C. Come nel caso precedente lo sviluppo delle colonie non si farà di molto attendere. Questo metodo di ricerca, come si capisce, è piuttosto grossolano, e in parte lo è anche quello del Koch, sebbene sia alquanto più perfetto; in ogni modo però l'uno e l'altro hanno il difetto comune di non dare il numero dei microrganismi contenuti in un determinato volume di aria. A questo inconveniente ha riparato in parte il dottor Hesse a mezzo dell'apparecchio qui figurato (fig. 24).

Sopra un trepiede trovasi posto in posizione orizzontale, un tubo di vetro lungo centimetri 70, largo 3,5. Ad una estremità esso è chiuso da due calotte di gomma elastica, di cui la esterna è intera, mentre l'interna porta nel suo centro un foro del diametro di 1 cm. All'altra estremità trovasi un tappo di gomma nel mezzo perforato, per ricevere un tubo di vetro esso pure del diametro di 1 cm.; questo tubo sporge appena nell'interno del tubo principale e in questo punto porta un turacciolo di cotone, mentre un'altro lo porta nel suo interno a poca distanza dal punto cui s'innesta il tubo di gomma, che

mette in comunicazione la parte superiore dell'apparecchio con gli aspiratori *B* e *B*, vasi conici di un litro di capacità per ciascheduno, posti a m. 0,50-0,75 l'uno dall'altro.

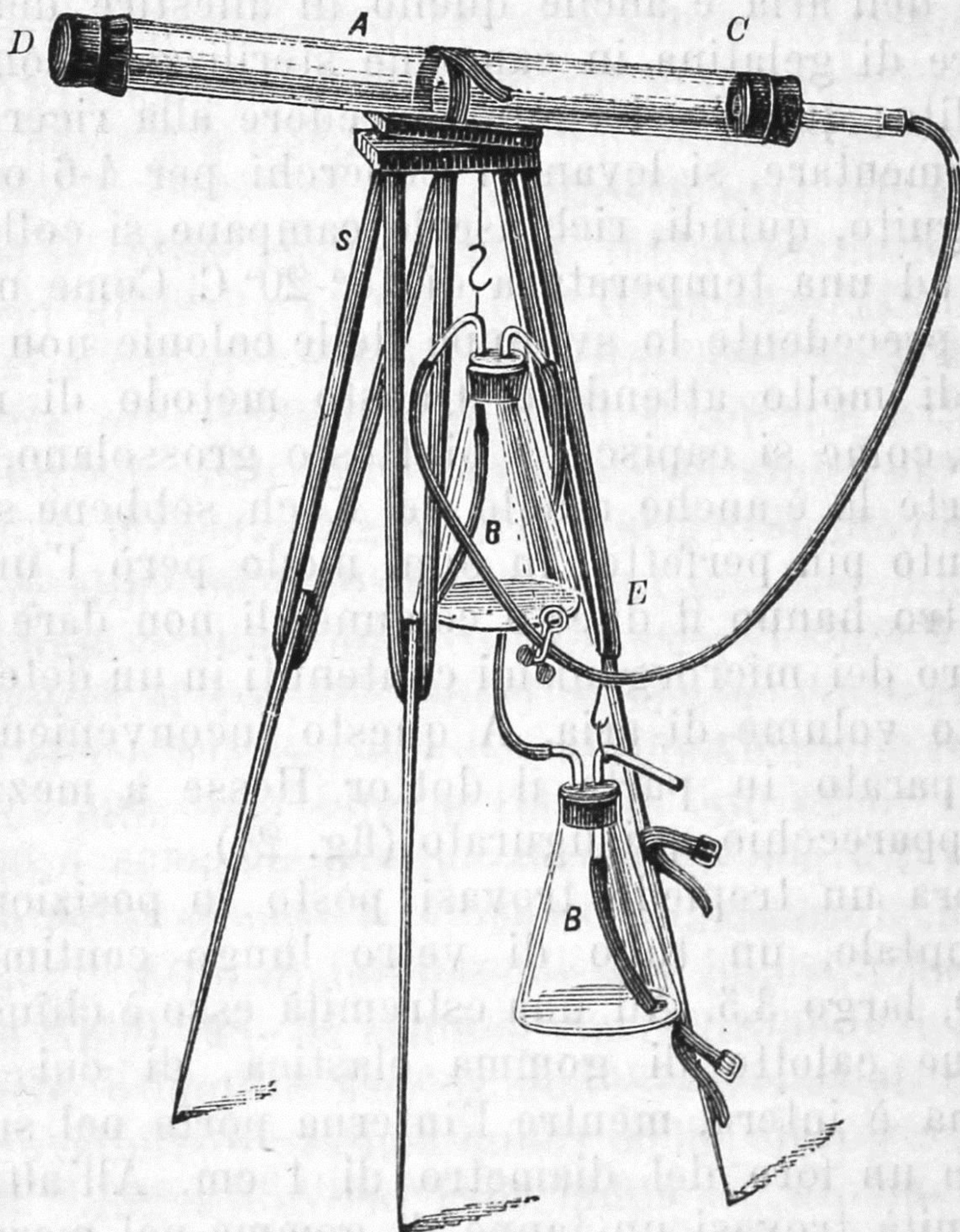



Fig. 24. — Apparecchio di Hesse.

Quando interessa di fare delle ricerche intorno ai microbi dell'aria, s'incomincia collo sterilizzare il tubo *A*, e col riempire di acqua l'aspiratore superiore. Ciò fatto si versa nel tubo 50 ccm. di gelatina liquefatta levando il tappo *C*, quindi si

chiude prontamente e si sterilizza di nuovo cilindro e gelatina per 2 ore nel vapore a 100° C. Si fa poi in modo, e occorre una certa pratica, che la gelatina copra tutta la superficie interna del cilindro, e che più abbondante che altrove si trovi riunita sul fondo, essendo dimostrato che i microrganismi si depositano bassi e a poca distanza dal foro d'entrata.

Approntato in tal guisa l'apparecchio, si leva la calotta esterna *D*, si toglie la pinza di pressione *E* ed esso entra in funzione. In 3-4 minuti un litro d'acqua è passato dalla bottiglia superiore alla inferiore, ciò che vuol dire che un eguale volume di aria è passato attraverso il tubo *A* ed ha depositato i suoi microrganismi sulla gelatina. Perchè l'operazione continui, si fa lo scambio dei vasi. Si calcola in media che per le ricerche che si fanno all'aperto devono passare per la gelatina 15-20 litri di aria; mentre che sono sufficienti 4-5 per quelle che si praticano in luoghi chiusi. Terminata la raccolta si rimette la calotta esterna *D*, impregnata di sublimato all'1 $^0/_{00}$, e si porta il cilindro in ambiente a 20°-22° C. Lo sviluppo delle colonie non si farà di molto attendere, e queste si potranno contare e studiare separatamente; si abbia cura però di seguire tale sviluppo per un tempo lungo al più possibile, cioè finchè le colonie incominciano a confondersi fra di loro, giacchè non tutti i microrganismi si sviluppano in un medesimo tempo; ve ne hanno di quelli che in poche ore formano una colonia, mentre altri, specialmente a temperature piutto-

sto basse, impiegano parecchi giorni. La massima parte delle colonie si vedrà in prossimità del foro di entrata, e queste andranno gradatamente diminuendo quanto più ci scostiamo da esso.

Alcune cause di errore che presenta anche l'apparecchio di Hesse sono tolte dall'aeroscopio di Miquel, strumento assai ingegnoso, di recente introduzione e che raccomandiamo, tanto più che è anche stato migliorato in qualche dettaglio dal dottor Roster. Non potendo qui mettere sott'occhio al lettore la figura, ci dispensiamo dal darne la descrizione.[1] Altri apparecchi ancora, a tubo, a bottiglia, a boccia, si usano dagli autori per la raccolta dei microbi atmosferici, che qui tralasciamo di descrivere.

L'analisi batteriologica dell'aria presenta molto interesse, e conduce a dei risultati soddisfacenti; certo però che essa ha sempre un valore relativo, non assoluto. Alcune forme, specialmente patogene, non si sviluppano sulle gelatine, o si sviluppano tardo, quando altre hanno già invaso il campo, per cui facilmente le soppiantano, e per esse quindi le nostre ricerche non approdano ad alcun risultato pratico. Tuttavia gli studi fatti dagli autori in condizioni diverse di temperatura, di stagione, di località, di stato atmosferico, quieto od agitato e così via, sono veramente istruttivi ed utili dal lato igienico, ed è da consigliarsi che vengano continuati e

---

[1] Vedasi G. ROSTER, *L'aria atmosferica studiata dal lato fisico, chimico e biologico.* Milano, 1889, pag. 53

ripetuti con frequenza e sopra larga scala, procurando sopratutto e per quanto sarà possibile, di migliorare i metodi di ricerca.

TERRENO. — Come l'aria che ci circonda è sempre carica di microrganismi che vengono trasportati in tutte le direzioni, come nell'acqua nuotano e si riproducono cotesti esseri, facendosi da essa trasportare da paese a paese, così sopra il terreno e in esso fino ad una certa profondità altri, e molti, in stato di quiete o di movimento stanno attendendo un veicolo di trasporto che, possono essere l'aria o l'acqua o forse qualche animale. Molti, come è naturale periscono, altri però, specialmente sotto forma di spore, raggiungono il loro intento. Che nel terreno e sopra di esso dove s'incontrano tanti e così svariati substrati di nutrizione per i microbi, dove vi hanno tante sostanze in decomposizione ed in putrefazione, dove hanno luogo tanti processi chimici, si trovino abbondanti i nostri microrganismi è cosa che si può asserire a priori.

Gli studi però degli autori, diretti in modo speciale alla ricerca delle forme patogene, fino al presente non hanno dato che pochi risultati, che cresceranno certamente col tempo di numero e d'interesse, quando le ricerche si faranno sopra più ampia scala. Se poi allo studio del terreno si aggiunge quello del pulviscolo depositato dall'aria negli ambienti, sui mobili ed altrove, l'argomento presenterà un orizzonte più vasto e forse più fecondo di scoperte.

La ricerca dei microrganismi nel terreno non presenta difficoltà. S'incomincia col pigliare del

terriccio, col farlo asciugare, e col ridurlo in polvere finissima in un mortaio sterilizzato. Dopo di ciò è facile levarne una porzione determinata e di mescolarla con un quantitativo, 10 ccm., fisso di gelatina fluidificata. Quando si crede che la distribuzione sia uniforme, si versa la gelatina sopra una lastra preparata come di consueto, e se ne fa una piastra da collocarsi in ambiente a 18°-20°. Per un esame di controllo è utile allestire altre piastre su cui si versa la gelatina, nella quale è disseminata una eguale quantità di terriccio reso sterile da una temperatura di 150°-180° C. La differenza di sviluppo fra una piastra e l'altra ci darà il quantitativo dei microrganismi contenuti in una determinata porzione di terriccio. Di ogni colonia formatasi in seno alla gelatina se ne studieranno le proprietà sia nei diversi substrati nutritivi, sia per inoculazione negli animali. Poichè fra i microrganismi alcuni ve ne sono che per svilupparsi devono essere fuori dell'aria, cioè sono anaerobi, così sarà bene di preparare, oltre che piastre come di consueto, altre piastre, sopra le quali si colloca una sottile lamina di mica sterilizzata, la quale rimanendo molto aderente al substrato toglie il contatto ed il passaggio dell'aria. Facciamo osservare che non è necessario di far entrare il terriccio in seno alla gelatina liquefatta; si potrebbe giungere al medesimo intento facendo la piastra colla gelatina sterile e quindi, quando questa è consolidata, versandovi sopra il terriccio, approntato come nel caso precedente, dandogli una distribuzione uniforme. In parecchi casi il miglior metodo per

giungere all'isolamento di alcune forme che eventualmente si trovano nel terreno, è quello di inoculare direttamente degli animali con terriccio o pulviscolo. Senza parlare dei risultati ottenuti dal Koch procedendo per questa via, interessanti dal punto di vista dell'igiene sono gli esperimenti recenti del Cornet, il quale volle inoculare negli animali il pulviscolo atmosferico delle camere e delle sale degli ospitali abitate dai tisici. Di 311 saggi di polveri provenienti da luoghi abitati da tubercolotici, 59 hanno dato infezioni; 77 saggi di polveri da luoghi non abitati da tisici hanno dato tutti un risultato negativo. « È importante di osservare che la polvere proveniente da camere abitate da tisici che si servono costantemente della sputacchiera non ha dato nessuna infezione; la polvere infettiva proveniva sempre dalle camere abitate da tisici che sputavano sul pavimento o nelle pezzuole. Questo risultato, continua il Cornet, era tanto costante, che io da ultimo sapevo in precedenza il risultato futuro e poteva determinare la virulenza o l'innocuità della polvere secondo le abitudini dell'infermo. » [1]

Accennato così per sommi capi al modo di eseguire un'analisi batteriologica dell'aria, dell'acqua e del terreno, chiudiamo questo breve capitolo, sicuri che il progresso degli studi in questo ramo della tecnica porterà tanta luce da mettere

[1] Il Baumgarten non accetta le vedute del Cornet; ma di quest'argomento ci occuperemo brevemente nella parte speciale.

in chiaro la via di propagazione della massima parte delle malattie da infezione. Raccomandiamo intanto, ogni qualvolta si vada alla ricerca dei microrganismi patogeni sia nell' aria come nell' acqua che nel terreno, gli innesti del materiale — pulviscolo, acqua, terreno — negli animali, giacchè riteniamo che sia questo uno dei migliori metodi per giungere alla loro scoperta.

PARTE SPECIALE

Veniamo ora a dire delle forme patogene meglio conosciute. Il voler trattare, sia pure brevemente, di tutti i microrganismi descritti da autori diversi come causa di malattie, sarebbe opera prematura, poichè non sempre gli studi furono eseguiti con quel rigore che esige l'argomento, nè sempre si ebbero le prove sufficienti per stabilire la loro azione patogenica.

Non passa quasi giorno che in Italia o fuori non si scoprano nell'organismo animale dei microbi che per la loro presenza in questo o quello organo ammalato vengono poi considerati come patogeni. Noi siamo i primi a ritenere che col rapido progredire della batteriologia molte forme che oggi non sono note o sono ritenute innocue, andranno ad aumentare il numero di quelle che cagionano malattie infettive; ma siamo anche convinti che conviene andare molto cauti prima di accogliere nell'elenco dei microrganismi patogeni delle forme che attualmente sono soltanto sospette o non si presentano, per mancanza di sufficienti prove, indubbiamente infettive. Per questa ragione tutto ciò che non crederemo sufficientemente dimostrato e comprovato,

lo passeremo sotto silenzio o ne faremo appena un brevissimo cenno. Ciò premesso veniamo alla descrizione biologica delle specie più importanti, di quelle specie che nell'interesse dell'umanità dovrebbero essere bene studiate dai batteriologi e conosciute dai medici ed igienisti.

BACILLO DEL CARBONCHIO ANTRACICO. — Venne scoperto nel 1850 da Rayer e Davaine. È un bacillo eminentemente aerobio, che trovasi nel sangue degli animali ammalati o morti di carbon-

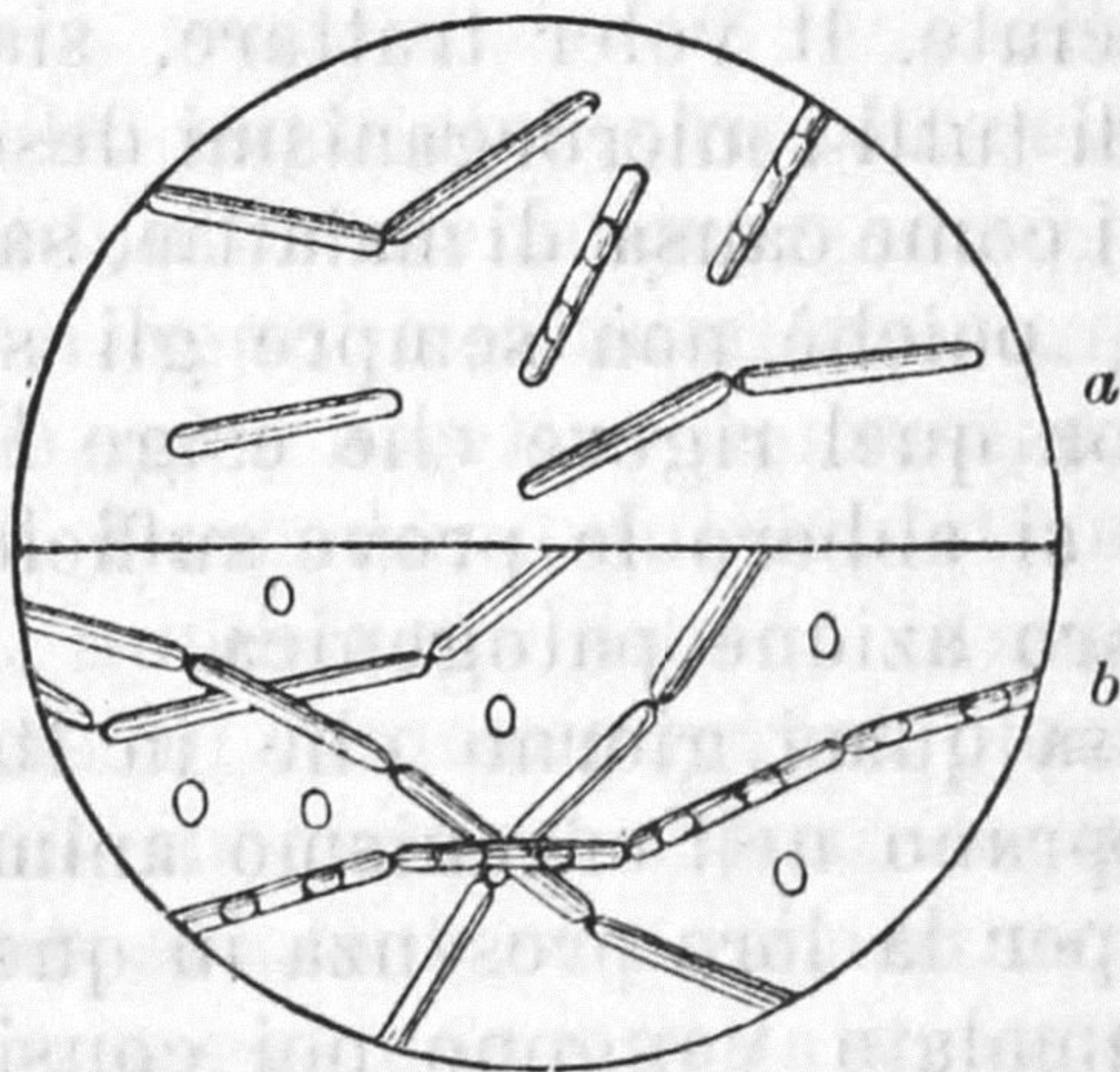



Fig. 25. — Bacillo del carbonchio antracico.

chio. Si presenta in bastoncini diritti, rigidi, immobili (fig. 25); fra i patogeni è uno dei più grandi.

Si coltiva bene anche fuori dell'organismo, sulle patate, in gelatina, in brodo, ecc.; in poche ore ad una temperatura favorevole si hanno rigogliose colonie. Il grado di calore più favorevole alla sua vita è quello di 35°-37°: sopra 43° [1] e

[1] Sovente in colture fresche di *B. anthracis*, portate ad una temperatura un pò elevata, ci è accaduto di trovare un grandissimo numero di forme degenerate, con ingrossamenti molto evidenti ed in tutto simili a quelli già illustrati dal Perroncito.

sotto 16° non si sviluppa più. Messo alla temperatura del corpo umano, sporifica in capo a 24 ore; osserviamo che nell'organismo animale non produce spore. Coltivato sulle patate, si trova sempre unito a pochi elementi, figura 25 *a,* mentre in agar-agar, e meglio ancora in substrati liquidi, ad es. brodi, cresce in lunghe catene, figura 25 *b*.

Sulle patate si presenta come uno strato di crema abbastanza grosso. In tubi di assaggio contenenti gelatina peptonizzata è del pari facilmente riconoscibile.

Quando sia stato trapiantato per infissione, dopo due o più giorni, incomincia a fluidificare il substrato, si forma un imbuto, e lungo il canale d'infissione si osservano tutto in giro ed irradianti verso le pareti del tubo numerosi filamenti abbastanza lunghi e sottili. In colonie sulla piastra, viste a piccolo ingrandimento, presenta un reticolato assai elegante, formato di filamenti lunghi che si intrecciano in tutte le direzioni.

Le forme vegetative hanno poca resistenza sia di fronte ai reagenti chimici, sia in presenza delle temperature alte e basse. Assai resistenti invece sono le spore, destinate alla conservazione della specie.

Molti sono gli animali che ammalano di carbonchio, e fra i più comuni ricordiamo i bovini, gli ovini e i roditori; nè troppo rari sono i casi di *pustola maligna* che si presentano nell'uomo. L'infezione nella nostra specie avviene di solito per lesioni accidentali, prodotte nel sezionare animali morti carbonchiosi. Il decorso della malattia è rapido e la morte non si fa molto atten-

dere; il ciclo si compie in un periodo di tempo che varia da poche ore a pochi giorni a seconda della specie animale di cui si tratta. La sua riproduzione è rapidissima;[1] poche ore dopo inoculato in un animale, lo si trova abbondante nel sangue ed in tutti gli organi bene ossigenati; non lo cercheremo perciò mai nei muscoli, nè in altre parti dove sappiamo che lo scambio di ossigeno si fa meno attivamente che altrove. Il cuore, il fegato, i reni, la milza, le ghiandole linfatiche contengono abbondantissimi i microrganismi; la milza poi presenta un aspetto caratteristico, cioè è molto rigonfia.

Non è ancora stabilito, come avvenga d'ordinario l'infezione naturale nei bovini, che sono gli animali, i quali più frequentemente vengono colpiti da questa malattia.

Probabilmente in alcuni casi, come ha dimostrato il Koch, avverrà per l'introduzione nello stomaco delle spore; queste, a differenza dei bacilli, passano, senza che il succo gastrico le uccida, nell'intestino, da dove si diffondono. Altra volta le forme vegetative o le spore penetrano forse traverso le mucose della bocca o retro-

---

[1] Davaine ha calcolato il numero che raggiungono ora per ora i discendenti di un solo bacillo di questa specie, riproducentesi per scissiparità, ed è giunto ai seguenti risultati. Uno di questi microrganismi dà alla fine di 2 ore, 2 bacilli: alla fine di 4 ore, 4 bacilli; alla fine di 6 ore, 8 bacilli; alla fine di 8 ore, 16 bacilli; alla fine di 24 ore, 4096 bacilli; alla fine di 48 ore, 16,777,216 bacilli; alla fine di 74 ore 137,219,753,312 bacilli. Con eguale ed anche maggiore rapidità si sviluppano del resto molte altre forme.

bocca per eventuali soluzioni di continuità prodotte da punture di erbe spinose od in altro modo. Non è escluso che in certi casi l'infezione avvenga per l'apparecchio respiratorio; od anche pel trasporto del materiale infettivo da un animale all'altro a mezzo delle mosche e di altri insetti. La diffusione di questo microrganismo può effettuarsi in molti modi, e prima di tutto per il trasporto di animali carbonchiosi ammalati o morti da un luogo all'altro, specialmente, se vanno perdendo escrementi sanguinolenti; per l'uso che alcuni fanno delle carni, le quali spesso prima della cottura vengono sciacquate in acque correnti, che rimangono così infettate; senza contare che tali carni sono anche assai pericolose per chi le maneggia.

Gli insetti, alcuni vermi e molti roditori possono facilmente trasportare i germi a distanze più o meno grandi.

Se i bacilli che vengono disseminati dagli animali carbonchiosi giungono in un substrato di nutrizione che non sia acido, e se si trovano esposti ad un certo grado di calore, si riproducono a mezzo di spore, le quali poi sfidando le intemperie attendono inalterate, anco per anni ed anni, il momento di estrinsecare tutta intera la loro virulenza.

È stato asserito dal Buchner che il bacillo dell'antrace possa tramutarsi in quello del fieno (*B. subtilis*), e da esso e da altri autori che possa essere soggetto a tale polimorfismo da presentarsi sotto forma di cocchi; ma l'una e l'altra asserzione riposano sopra esperimenti inesatti e interpretazioni erronee.

Vaccino del carbonchio antracico. — A merito del Pasteur, questo microrganismo può essere attenuato nella sua virulenza fino a diventare innocuo.

Il metodo di preparazione di questo virus attenuato è semplicissimo e lo abbiamo, almeno in parte, già esposto a pag. 38. Esso consiste nel portare le colture, che si fanno di solito in brodo di pollo, ad una temperatura di 42°-43°; a questo grado di calore il bacillo si riproduce ancora, ma non sporifica. Dopo essere stata esposta alcuni giorni a 42°-43°, la coltura è già attenuata nel suo potere infettante, ed arriva il momento, in cui essa è perfettamente innocua. Notiamo il fatto importantissimo, che da una coltura attenuata, p. e. di 6 giorni, si possono ottenere per trasporti in brodi altre colture, le quali anch'esse sono attenuate come lo era la coltura madre.

Procedendo in questo modo, si arriva al vaccino carbonchioso scoperto dal Pasteur, e successivamente meglio stabilito dal Koch. Quest'ultimo ha trovato che il virus vaccinico sarà addatto per il primo innesto degli animali quando uccide ancora i topi bianchi, ma non uccide le cavie, e per il secondo innesto quando fa morire le cavie e non i conigli.

La parte pratica dell'operazione è abbastanza facile, quando si proceda seguendo scrupolosamente le regole già tenute dal Pasteur, che inaugurò solennemente a Melun la sua importante scoperta.

Dopo i brillanti successi avuti dal celebre batteriologo francese si praticarono in tutta Europa

le vaccinazioni carbonchiose; vi fu qua e là qualche insuccesso, nondimeno il vaccino carbonchioso trionfò. In alcuni casi si è constatato che l'insuccesso era dovuto all'uso di colture troppo virulente in luogo del vaccino; così recentemente a

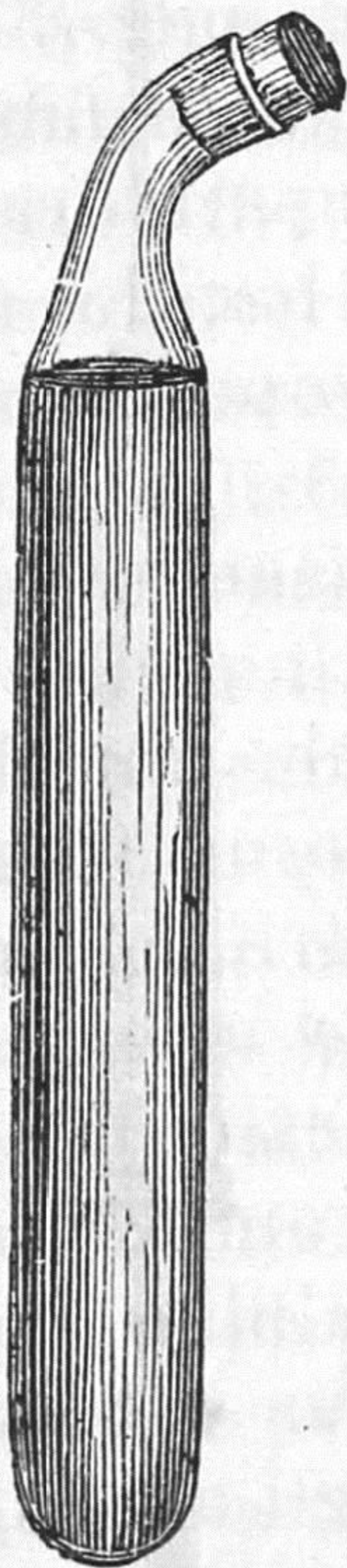



Fig. 26. — Vaccino carbonchioso.

Odessa sopra 4414 pecore innestate ne perirono 3549, perchè il materiale d'innesto non era sufficientemente attenuato. Per la nostra Italia e per tante altre regioni d'Europa, dove il carbonchio antracico reca annualmente danni considerevoli, la scoperta del Pasteur merita tutta la riconoscenza degli allevatori di bestiame. I vaccini vengono spediti a richiesta in tubi chiusi (fig. 26) da tappi

di caoutchouc che contengono la quantità di liquido necessario per vaccinare 100 montoni o capre, oppure 50 buoi, vacche o cavalli. Le sirin-

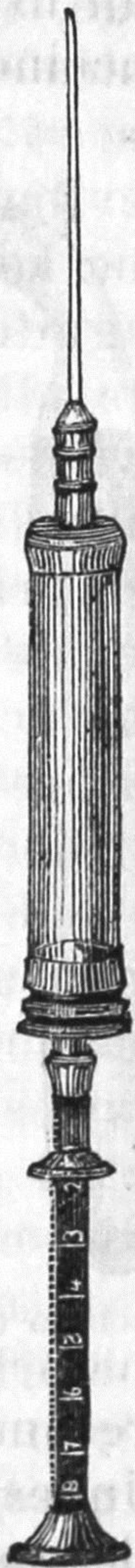



Fig. 27. — Siringa per vaccinare.

ghe che si usano a questo scopo (fig. 27) hanno l'asta graduata e divisa in otto parti. Per innestare capre e montoni si introduce nell'animale tanto liquido, quanto corrisponde ad una divi-

sione, per cui a siringa piena s'innestano otto ovini. Per i bovini ne occorre una quantità doppia, due divisioni; quindi innestando quattro animali si vuota la siringa. Quando si ha un po' di pratica in questa tecnica speciale, si può facilmente in un'ora innestare 150-200 capi di bestiame. Avvertiamo che per evitare eventuali accidenti, un tubo di vaccino, una volta aperto, deve essere consumato tutto di seguito; se ne rimane, il restante non deve essere ulteriormente adoperato.

Gli innesti preventivi, come abbiamo già detto, si fanno in due volte alla distanza di 12-15 giorni l'uno dall'altro. Si usa prima il vaccino più attenuato, quello che uccide i topi e non le cavie, poscia il più forte, che uccide le cavie e non i conigli. È utile di praticare queste due operazioni in due punti differenti del corpo.

Se il primo innesto si è fatto p. e. alla coscia destra, si farà il secondo alla coscia sinistra. Le inoculazioni si possono praticare in qualunque parte del corpo; tuttavia si preferiscono regioni speciali, che sono per gli ovini la faccia interna della coscia, per i bovini e per i cavalli la spalla.

Si consiglia sempre di agitare il liquido vaccinico prima di adoperarlo, altrimenti si può andar incontro a qualche insuccesso. Si consiglia pure, quando sia possibile, di vaccinare gli animali in primavera a preferenza di ogni altra stagione, e di risparmiare le femmine in avanzata gravidanza, se ragioni urgenti e del momento non si oppongono.

Il tempo, durante il quale gli animali conservano l'immunità in seguito a vaccinazione car-

bonchiosa, non è determinato in modo assoluto; pare però che per il periodo di un anno un animale completamente innestato sia esente dalla malattia. Interessante è il caso testè illustrato dal Perroncito. Si tratta di un ariete, che dopo un innesto preventivo è stato ripetutamente inoculato con colture pure ed assai virulente di bacilli e di spore di carbonchio antracico. L'animale non solo non ebbe alcun sintomo molesto, ma ucciso 4 giorni dopo l'ultimo innesto, non presentò in nessuna parte del suo corpo microrganismi specifici, nè si potè con materiale fresco, levato dal cadavere, infettare gli animali che vanno soggetti a questa infezione. Come tante spore e tanti bacilli sieno stati eliminati o distrutti, non siamo in grado di spiegare in maniera plausibile.

Bacillo del carbonchio sintomatico. — Il bacillo di cui ora parliamo è stato studiato più in Francia che da noi, e ciò a merito di Arloing, Cornevin e Thomas, che lo denominarono *Bacillus Chauvaei*. Esso è diritto, misura in lunghezza 5-8 μ., in larghezza 1 μ; è formato di solito di individui separati, più raramente di individui uniti a due, e presenta movimenti vivacissimi. La sua forma ricorda sovente un battaglio di campana, ciò che dipende dalla presenza di una spora molto evidente che trovasi ad una estremità. La posizione della spora però è variabile, talvolta p. e. si trova in mezzo, ed allora il bacillo assume la forma di un fuso.

Questo microrganismo, a differenza del precedente, è anaerobio, per cui si riesce a coltivarlo con difficoltà. Esso agisce in modo particolare

sugli animali. È strano che mentre ha azione assai virulenta sulle cavie, è perfettamente innocuo per i conigli; e mentre colpisce i bovini fra i 6 mesi ed i 4 anni di età, risparmia quasi completamente i vitelli giovani e gli individui che vanno invecchiando. La tabella qui unita del signor Hess, che ha osservato 989 casi di carbonchio sintomatico, è assai istruttiva in proposito. Fra questi animali:

374	avevano	da 6 mesi	ad	1 anno
439	»	da 1 anno	a	2 anni
83	»	da 2 anni	a	3 »
65	»	da 3 »	a	4 »
10	»	da 4 »	a	5 »
18	»	da 5 »	a	6 »

A differenza del carbonchio antracico, che coltivato alle temperature ordinarie conserva la sua virulenza attraverso ad un numero indefinito di generazioni, questo, trapiantato da una coltura all'altra, dopo 3 generazioni viene attenuato e finisce col diventare perfettamente innocuo.

La malattia ha decorso rapido quanto il carbonchio antracico, ed è letale come questo. Si presenta con un tumore irregolare, mal circoscritto, che progredisce rapidamente, sonoro alla percussione e crepitante per la presenza di gaz nel suo interno. Questo tumore, che di solito si trova nelle masse muscolari, può essere molto appariscente, oppure nascosto nella profondità dei tessuti. La località, in cui si sviluppa, è varia.

Esso però non si presenta in regioni ricche di

tessuto connettivo e povere di muscoli, ed è più comune sulla metà destra del corpo che sulla sinistra.

All'autopsia, fatta astrazione dalla lesione locale, si trova l'intestino arrossato, il fegato e la milza quasi normali. I bacilli sono scarsi nel sangue, durante la vita dell'animale, più numerosi alcune ore dopo la morte, e si trovano abbondanti nel succo che si può spremere dai muscoli, e nella bile.

Per infettare animali con materiale di carbonchio sintomatico, a differenza del carbonchio antracico, è mestieri adoperarne una quantità piuttosto grande.

Gli autori francesi hanno fatto degli esperimenti d'inoculazione nella coda, e sono venuti alla conclusione che essa non ha che una debole receptività per il virus in discorso, e che di più tale receptività aumenta mano mano che ci avviciniamo alla di lei radice. Interessanti sono gli esperimenti coll'acido lattico, nei quali è dimostrata l'attività che il virus assume in presenza di questa sostanza.

Se s'infetta una cavia con 3 goccie di liquido spremuto dalla polpa muscolare di un animale morto di carbonchio sintomatico, essa perisce in 40-50 ore.

Se s'infetta un'altra cavia con la stessa quantita del medesimo liquido, al quale sia stata aggiunta 30 ore prima di usarlo una miscela di zucchero ed acido lattico, l'animale morrà in un tempo assai più breve del primo.

Anche il calore aumenta, in certi casi, la vi-

rulenza. Il virus portato per 2 ore e 10 minuti a 70° ha fatto perire, innestato nelle cavie, questi animali in capo a 18-20 ore.

Gli autori francesi non dànno una sola forma di microrganismo del carbonchio, ma accanto ai bacilli sporificanti o no descrivono dei numerosi micrococchi, che sarebbero il risultato del frammentarsi dei bacilli che non hanno sporificato.

Dai loro esperimenti risulta che tanto i bacilli, quanto le spore, come i loro cosidetti micrococchi, possiedono un'attività infettante pressochè eguale.

Fuori dell'organismo animale il microbio del carbonchio sintomatico si coltiva difficilmente. Si consiglia di riprodurlo in brodo di pollo, al quale viene addizionata una piccola quantità di glicerina e di solfato di ferro. In questo modo esso conserva anche più a lungo, cioè per un numero maggiore di generazioni, la sua virulenza, virulenza che perde dopo la prima generazione se è coltivato in contatto dell'aria, e dopo la terza se lo si riproduce in un'atmosfera di anidride carbonica. Nel brodo di manzo acidulato con l'acido lattico conserva la sua attività fino alla sesta generazione.

È noto che se si spreme il virus contenuto in un tumore carbonchioso e lo si dissecca, prima che incominci una decomposizione, fino verso i 35°, esso conserva per oltre due anni una attività notevole e costante. Se il detto virus si mescola a due parti di acqua e si scalda in una sottocoppa in strato sottile portandolo per 7 ore a 100°-104° gradi, si ottiene un vaccino molto

attenuato. Se invece per lo stesso spazio di tempo lo si tiene a 90°-94°, il vaccino sarà alquanto più attivo. Tali vaccini si conservano fuori dell'aria per servirsene all'occasione.

Gli animali vengono innestati con due inoculazioni alla distanza di 8 giorni l'una dall'altra.

Il carbonchio sintomatico è in Italia abbastanza comune; in alcune provincie si sviluppa insieme col carbonchio antracico, in altre sta quasi da sè solo. Nelle località dove domina, si presenta frequente nella stagione estiva; in primavera e in autunno è raro e scompare quasi completamente durante l'inverno.

Bacillo dell'edema maligno. — Questo microrganismo ha per noi un interesse limitato, perciò riassumeremo con molta brevità gli studi che furono fatti intorno ad esso. È un bacillo che morfologicamente ricorda quello del carbonchio antracico, col quale anzi da qualche autore fu scambiato. Si trova abbondante alla superficie del terreno, nei liquidi putrefatti, e nella polvere del fieno, per cui fu anche chiamato *bacillo del fieno* (Heubacillus), e da altri *Bacillus subtilis*, mentre il Pasteur lo denominò *Vibrion septique.* Forse il metodo migliore per istudiarlo è quello di prendere della terra da giardino, disseccarla, per uccidere le diverse forme vegetative ed i cocchi, e quindi stemperata in acqua distillata e sterilizzata portarla sotto la cute di una cavia; in capo a 40-50 ore l'animale muore. Nella regione inoculata si trova allora un'edema del tessuto sottocutaneo più o meno esteso, ricco di un liquido inodoro e sanguinolento, nel quale si osservano

molti bacilli. Questi sono bastoncini generalmente mobili e cigliati, lunghi da 3 a 4 μ., larghi da 1 a 1,5 μ., talvolta separati, spesso riuniti a due, od anche a filamenti di lunghezza diversa, variabile questa fra 20-40 μ. A differenza dei bacilli del carbonchio antracico, che sono segmentati, quelli dell'edema non presentano alcuna segmentazione, e di più sono alquanto più sottili. Si noti come altra caratteristica, che mentre nell'animale appena morto sono abbondanti nel liquido dell'edema e nel siero delle grandi cavità del corpo, non esistono o sono scarsissimi nel sangue. Qualche tempo però dopo la morte sono frequenti dovunque, anche nel sangue del cuore.

È degno di menzione il fatto che le spore non si formano nei filamenti, ma invece nei singoli bacilli. Questi s'ingrossano nel mezzo o ad uno dei loro estremi, e nel punto ingrossato apparisce a poco a poco una spora, che si rende vieppiù lucente, e collo sviluppo della quale scomparisce il resto del bacillo.

Il microrganismo in discorso è patogeno per le cavie, pei conigli e topi bianchi; secondo Brieger, Ehrlich e Flügge lo sarebbe anche per l'uomo. Generalmente è una forma che vive saprofita, ed appartiene al gruppo degli anaerobi del Pasteur, quindi è difficile coltivarla nei soliti substrati.

Quando si vogliono infettare degli animali, bisogna importarla in grande quantità; anche questo fatto costituisce una differenza notevole di fronte al carbonchio dell'antrace.

Bacillo della tubercolosi. — Che la tuberco-

losi sia malattia di natura parassitaria, è un fatto che indirettamente è stato stabilito ormai molti anni addietro, sia dall'anatomia patologica, sia dal decorso della malattia, sia ancora dai risultati degli innesti fatti in Italia e fuori da persone autorevoli che riescirono a trasmettere l'infezione dall'uomo agli animali. Ciò nonpertanto il merito della scoperta del microrganismo specifico spetta a Roberto Koch di Berlino, che lo fece conoscere nel 1882.

I bacilli del Koch, che si colorano coi metodi che abbiamo altrove indicati (pag. 142), sono ba-

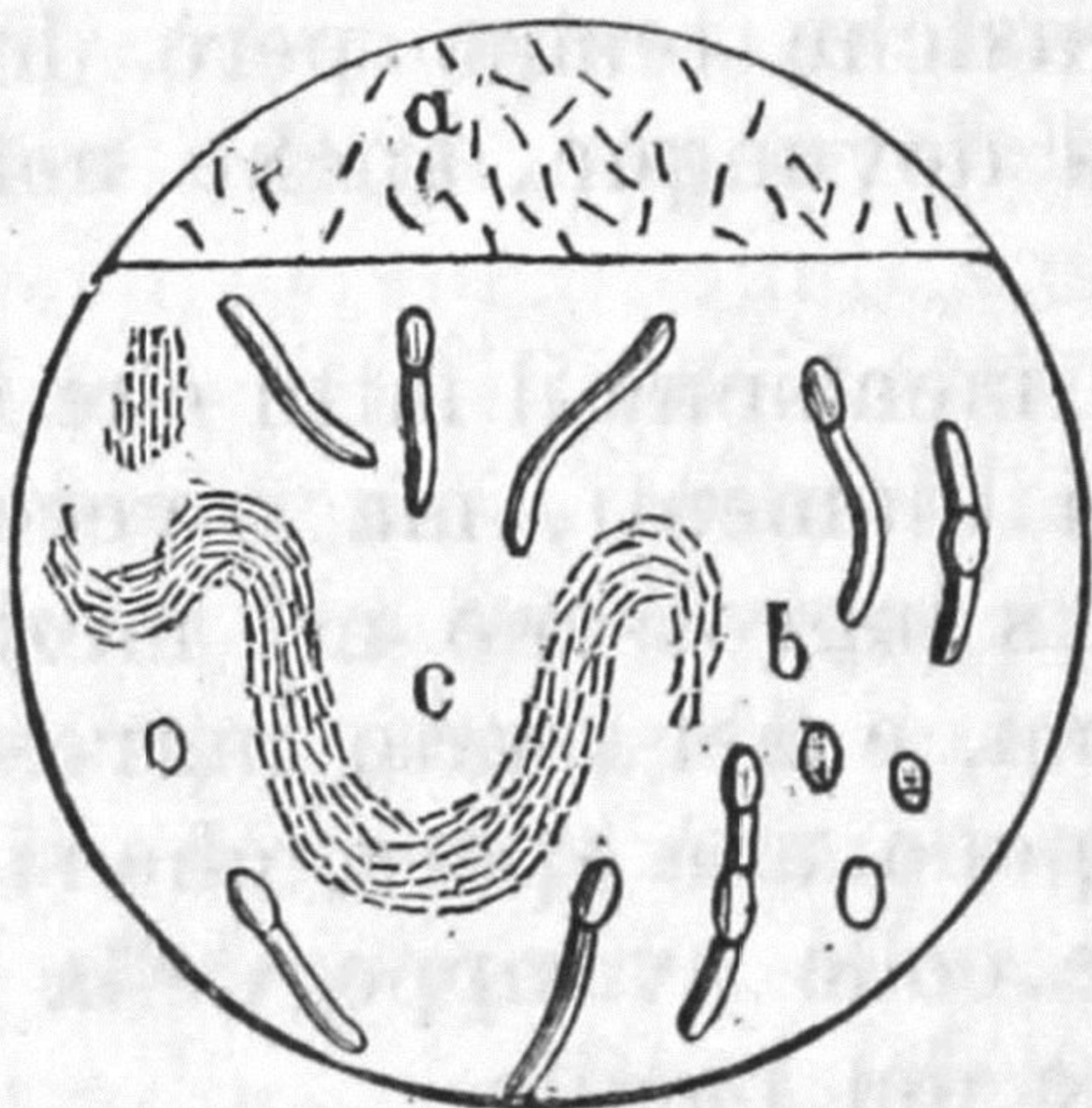



Fig. 28. — Bacilli tubercolari.

stoncini più piccoli di quelli che fino al presente abbiamo descritto (fig. 28, *a*), misurano da 2 a 4 μ., hanno le estremità arrotondate, sono privi di movimento, hanno sovente nel loro interno delle spore, (fig. 28, *b*, notevolmente più ingrandita che in *a*), sono d'ordinario separati uno ad uno, talvolta riuniti a due; non di rado formano dei fascetti. I bacilli, di cui parliamo, si trovano nella tisi polmonare tubercolare e nei casi di tubercolosi del fegato, dei reni, della milza, ecc. In numero va-

riabile si trovano pure gli stessi bacilli nei casi di *lupus*. Leloir recentemente, parlando delle tre varietà atipiche del lupo volgare, cioè varietà colloide, mucoide o mixomatosa e sclerotizzante, dice che esse, come il lupo volgare classico, non sono altro che forme attenuate di tubercolosi cutanea. *Attenuate*, perchè non contengono che un piccolo numero di bacilli.

Presa stanza nei polmoni, i bacilli si rinvengono nei nodi tubercolari, nell'interno delle cellule giganti, nel contenuto delle caverne, negli sputi. L'esame di questi a scopo diagnostico è diventato oggi di uso comune, ed è certamente di grande vantaggio per il medico; altrettanto dicasi dell'esame delle urine in caso di sospettata tubercolosi dei reni. La presenza di bacilli in questi liquidi indica sicuramente l'esistenza nei rispettivi organi di processi tubercolari; la mancanza però non li esclude, e prima di pronunciarsi in modo definitivo, è mestieri di ripetere l'esame più volte a qualche giorno di distanza.

I germi tubercolari dispersi sul terreno coi prodotti di espettorazione conservano a lungo tutta la loro virulenza; essi si disseccano e vengono facilmente sollevati nell'aria ed inspirati. Le inalazioni saranno tanto più pericolose, quanto più l'individuo sarà *predisposto* ad ammalare, per esempio per soluzioni di continuità del rivestimento epiteliale in seguito ad una bronchite o per molte altre ragioni. Gli autori sono d'accordo nell'ammettere che l'entrata dell'infezione avviene più comunemente per le vie respiratorie, senza escludere che in altri casi i microrganismi pos-

sano farsi strada attraverso l'apparecchio digerente, tanto più che è dimostrato che l'azione del succo gastrico sui bacilli della tubercolosi è nulla; e per le vie genito-urinarie.

Cornil, al Congresso per la tubercolosi tenutosi a Parigi, sostenne che la penetrazione dei bacilli della tubercolosi può avvenire per la via delle mucose anche se queste non presentano erosioni o lesioni di sorta, e basta che il virus sia a contatto con una mucosa, perchè avvenga l'infezione. L'autore eseguì degli esperimenti facendo ingerire a delle cavie colture pure di bacilli tubercolari, e seguì poi il passaggio di questi attraverso la mucosa dell'intestino. Il medesimo Cornil, a mezzo di esperimenti, è pure venuto alla conclusione, che anche l'infezione dell'utero è possibile per la via vaginale, se vi s'introducono dei bacilli. Altri autori hanno constatato il passaggio dei bacilli tubercolari attraverso la cute delle mani, importati con punture accidentali.

Quanto al passaggio dei microrganismi tubercolari dalla madre al feto, pare che succeda raramente, e soltanto in seguito a lesioni della placenta.

Molti sono gli animali soggetti ad ammalare di tubercolosi; per citarne alcuni, ricordiamo le scimmie, i conigli, le cavie, i bovini ed i polli. L'infezione può essere importata artificialmente inoculando gli animali nelle parti del corpo più svariate coll'introduzione di colture di bacilli o con altro materiale adatto, tolto direttamente da animali tubercolotici.

L'isolamento dei microrganismi specifici in col-

ture pure non è facile, e ciò per le ragioni che indicheremo più sotto. Se prendiamo del materiale tubercolotico da un polmone, e facciamo dei trasporti in siero di sangue solidificato e tirato a becco di flauto, nella massima parte dei casi, dopo uno o due giorni, si vedrà un abbondante sviluppo di cocchi o di altre forme che non hanno nulla di comune coi bacilli tubercolari. Se in qualcheduno dei tubi, in capo allo stesso tempo, non vi ha alcun sviluppo, ed i medesimi sembrano sterili, si può avere fiducia che l'innesto sia riescito, nel qual caso soltanto dopo 8 o più giorni incominciano ad apparire evidenti ad occhio nudo le colonie. Vista la difficoltà di riescire per questa via ad ottenere colture nette del bacillo in discorso, vi è chi consiglia il trasporto di un nodicino tubercolare nella camera anteriore dell'occhio di coniglio; tale nodicino in capo ad 8-10 giorni si vedrà ingrossato; allora lo si leva colle dovute cautele e parte di esso si importa nell'occhio di un secondo coniglio, e dopo alcuni giorni nell'occhio di un terzo, e così di seguito, finchè se ne ha una coltura pura che è poi facile di trapiantare e conservare in siero di sangue.

Dopo le raccomandazioni di Gottard e Roux si prepara il siero di sangue, a scopo d'isolare in colture nette i bacilli della tubercolosi, coll'aggiunta di 6-8 parti p. $^0/_0$ di glicerina sterilizzata; in questo modo ne è facilitato lo sviluppo, le colture vengono meglio, e i microbi germogliano più presto.

E però da notare che in tale substrato i germi perdono dopo 6-7 settimane la loro virulenza.

Comunque si proceda, come si è già detto, il giungere ad ottenere queste colture è sempre cosa non facile, e ciò per molte ragioni, come a dire la lentezza nella riproduzione, la difficoltà d'importare nel tubo di assaggio del materiale puro, e la difficoltà di conservare una temperatura adatta allo sviluppo. L'aspetto delle colonie (osservate a circa 80 diam.) è affatto caratteristico; esse si mostrano intrecciate e ripiegate in modo molto elegante. Sono per lo più l'aggruppamento di linee ad *S* (fig. 28, *c*), assottigliate alle estremità, e rigonfie nel mezzo. Ad occhio nudo si presentano prima sotto l'aspetto di punti più o meno estesi di un color bianco sporco, che poi unendosi dànno origine ad una pellicola increspata dello stesso colore.

Il siero non viene fluidificato, e la coltura si estende tutta in superficie, non in profondità. I bacilli, come nell' organismo animale, contengono dopo qualche tempo delle spore. Essi sono parassiti nel vero senso della parola, e non anche saprofiti, per cui, abbandonati a sè stessi, non trovano le condizioni volute alla loro riproduzione, e dopo un certo tempo, esaurita la resistenza delle spore, periscono.

È noto, come la tubercolosi si sviluppi più volte *primitiva* in organi diversi dal polmone, come è anche noto, e il caso è più frequente, che dal polmone passi in altre parti del corpo, e sovente per *autoinfezione*, cioè per ingestione per parte del tubercoloso dei proprii sputi o parti di essi, nell'intestino.

Aggiungiamo che nei casi di *tubercolosi mi-*

liare acuta, che ha tutti i caratteri clinici di una malattia infettiva acuta, e di *tubercolosi generale disseminata*, si trovano i bacilli nel torrente circolatorio.

Qui crediamo utile di riferire i voti del Congresso di Parigi, per lo studio della tubercolosi riassunti nei seguenti paragrafi:

1.° È necessario di comprendere la tubercolosi fra le malattie contagiose, che richiedono misure profilattiche speciali, che saranno sancite nelle leggi e nei regolamenti di polizia sanitaria.

2.° È necessario di sollecitare con tutti i mezzi possibili, compresa l'indennità agli interessati, l'applicazione generale del principio del sequestro e della distruzione totale di tutte le carni provenienti da animali tubercolotici, quale che ne sia la gravezza delle lesioni rinvenute negli animali.

3.° È necessario di sottomettere ad una speciale vigilanza le vaccherie destinate alla fornitura del latte, per assicurarsi che le vacche non sono colpite da malattie contagiose, specie la tubercolosi, suscettibili di trasmettersi all'uomo.

4.° È necessario di compilare delle istruzioni semplici da diffondersi nelle città e nelle campagne, indicanti i mezzi da mettere in opera per evitare i pericoli dell'infezione tubercolare per la via dell'alimentazione.

5.° È necessario di porre nelle attribuzioni dei Consigli d'igiene tutto quanto si riferisce alle malattie contagiose degli animali domestici, comprese quelle che finora non sembrano trasmissibili all'uomo: alla vaccina, alla morva, alla rabbia, al carbonchio, alla tubercolosi, si potranno

via via aggiungere tutte quelle altre malattie infettive comuni, che esigono del pari speciale sorveglianza.

In quanto ai pericoli, a cui espone l'uso della carne e del latte di animali tubercolotici, ricordiamo che la questione è stata sollevata il giorno, in cui venne dimostrata la trasmissibilità della tubercolosi per le vie digerenti. Per quanto riguarda l'uso del latte, tutti gli igienisti sono d'accordo nel dichiararlo virulento tutte le volte che esso proviene da mammelle tubercolotiche; siccome poi è non di rado difficile di riconoscere queste come tali, così, stabilito, che la vacca è colpita di tisi, si dovrà provvedere come se la mammella stessa fosse resa tubercolotica e, in ogni caso, si dovrà sempre consigliare il latte bollito. L'ebollizione è il solo mezzo pratico per metterci al riparo dai gravi pericoli del latte tubercoloso, specialmente nelle città, dove la sua provenienza è sempre sospetta. Se in qualche caso si crede necessario l'uso del latte crudo, bisogna abbandonare quello di vacca per ricorrere a quello delle capre, nelle quali la tubercolosi è quasi affatto sconosciuta.

Quanto alla carne proveniente da animali tubercolotici, il di lei consumo deve essere vietato tutte le volte che la malattia si è resa generale ed ha quindi prodotto negli animali stessi un dimagrimento assoluto o relativo. In difetto di questo, ossia quando la malattia è rimasta localizzata, l'uso delle carni potrebbe forse essere permesso sotto l'osservanza di determinate cautele dirette ad allontanare ed a distruggere i fo-

colai del male, nella stessa guisa che si permette l'uso delle carni panicate alla condizione che l'elminto venga ucciso con metodi rigorosi da praticarsi da persone esperte in materia. La disinfezione delle sostanze contenenti i bacilli della tubercolosi si ottiene sia coll'acido fenico in soluzione al 5 %, sia col vapore acqueo alla temperatura di 100° C. Nell'un modo o nell'altro si possono quindi disinfettare tutte le sostanze contenenti dei bacilli, come sarebbero gli sputi, le feccie, le urine, il vestiario, ecc. Il sistema di disinfezione a mezzo del vapore acqueo è stato recentemente applicato su larga scala in Francia nel dipartimento della Senna, dove le stufe mobili di Geneste e Herscher hanno fatto buona prova.

È stato asserito che si possa inoculare nelle persone la tubercolosi col mezzo della vaccinazione vaiolosa; ma supposto che questa sia fatta con tutte le regole dell'arte, ed ammesso pure che il vaccino sia tolto dalle pustole dei vajuolosi, ciò che raramente si pratica, è stato dimostrato dal Peiper, che quel pericolo è assai remoto, perchè la linfa delle pustole anzidette, ancora che provenga da individui tubercolotici, non contiene i bacilli dei quali ora trattiamo.

Invece è messo fuori di dubbio, specialmente in seguito agli studi del Cornet e dell'Engelmann, che è pericoloso di abitare le stanze, nelle quali abbiano dimorato persone tubercolotiche. Ciò che ci induce a dare un consiglio pratico, che è di non frequentare che quei luoghi di cura pei tisici, nei quali non siano rigorosamente os-

servate le regole della profilassi, poichè, altrimenti, il tisico correrebbe pericolo di peggiorare le sue condizioni di salute, e chi non fosse colpito da questa grave malattia, di contrarla colà dove si è recato per liberarsi da disturbi polmonali di lieve momento.[1]

E prescindendo dai luoghi di cura, dobbiamo soggiungere che un locale, dove ha dimorato un tisico, deve essere disinfettato insieme a tutti gli oggetti che contiene, prima che possa essere abitato da un'altra persona, poichè è ormai constatato che il pulviscolo depositato sui mobili, p. e. la lettiera, contiene i germi della malattia, i quali sono sempre pronti ad infettare.

Il dott. P. Baumgarten ha esposto recentemente (1888) delle vedute molto diverse da quelle della maggioranza dei batteriologi: così egli sostiene che la tubercolosi ha quasi sempre origine gentilizia, ed i suoi germi non penetrano nel nostro organismo, nella pluralità dei casi, per le vie respiratorie o digerenti; che tale malattia non si sviluppa, ma resta latente nella prima gioventù, perchè questa oppone grande resistenza all'opera malefica dei bacilli; che negli sputi essicati l'azione del virus è grandemente attenuata; ecc. Non è questo il luogo di discutere le accennate opinioni; ma non possiamo non accoglierle con grande riserva, perchè ci sembra che abbiano bisogno di essere confermate da ulteriori sperimenti.

---

[1] Mentre scriviamo queste linee, si discute a Merano, luogo molto frequentato da tali malati, intorno alla istituzione di uno Stabilimento di disinfezione.

Bacillo della lebbra. — È noto che la lebbra, malattia infettiva che invade in modo speciale la pelle e le mucose della bocca e della laringe, è attualmente in Europa meno diffusa che per lo passato, di guisa che si può dirla limitata alla Spagna, alla Grecia ed alla Norvegia. A noi non spetta di discorrere delle diverse forme, sotto cui la malattia si manifesta, e d'altra parte l'aspetto miserando, e spesso ributtante, che presentano i colpiti da questa infezione, è troppo noto per farne qui una descrizione. La stessa storia qua e là parla di lebbra o di elefantiasi abbastanza diffusamente, e in essa si legge che Santa Margherita lavava i lebbrosi e li baciava, preferendo i baci degli ammalati immondi a quelli di suo marito.

Quello che a noi interessa dal lato batteriologico si è, che tutte le produzioni lebbrose, sieno esse superficiali o profonde,racchiudono una quantità enorme di bacilli specifici, scoperti per la prima volta da A. Hansen e successivamente meglio studiati da parecchi altri autori. Questi bacilli hanno grande somiglianza con quelli tubercolari, portano spesso due o più spore, e stanno nell'interno delle cellule dei nodi lebbrosi in numero abbondantissimo. I bacilli in discorso sono stati rinvenuti negli organi più svariati: fegato, milza, polmone, testicolo, gangli linfatici ipertrofici, ecc.

Nel sangue che si ottiene pungendo un tubercolo lebbroso si constata la presenza dei bacilli specifici, i quali sono liberi o contenuti in cellule linfatiche. Sovente essi si rinvengono anche in

organi e tessuti che appariscono perfettamente sani. È difficile distinguere i bacilli lebbrosi da quelli tubercolari. Il metodo però di colorazione, quale è stato proposto dal Baumgarten (vedi pagina 145), dà un diagnostico in ogni caso sicuro. Il numero e la disposizione dei microrganismi, che si osservano in preparati sul vetrino o nelle sezioni, sono pure spesso caratteri buoni, ma non sempre sufficientemente attendibili. Certo è che la presenza dei bacilli, in numero sempre assai grande in tutte le cellule lebbrose e in tutte le lesioni della lebbra, fa sì che si possa dire che questa malattia è tra le parassitarie una delle più caratteristiche.

La coltivazione dei microrganismi, dei quali parliamo, fuori dell'organismo animale e nei substrati di nutrizione, è di incerta e difficile riescita. Pare che il miglior substrato sia l'agar-agar mescolato alla glicerina.

La contagiosità della lebbra è sempre in discussione; molti autori la negano, altri la ammettono; Cornil si schiera fra questi ultimi e cita molti fatti per sostenere le sue asserzioni. Vidal ricorda il fatto di un uomo, che essendo stato ventidue anni nell'India, ritornò in Inghilterra ove fu riconosciuto lebbroso e curato all'ospedale di Dublino. Questo infermo morì poi di lebbra nella propria casa ed il di lui fratello, che non aveva mai lasciato l'Irlanda, ma erasi coricato nel letto dell'infermo ed aveva indossato i suoi vestiti, divenne lebbroso. Aggiunge che individui nati da parenti sani possono essere contagiati contraendo rapporti con lebbrosi; così un bambino, nato da

genitori sani che aveva quattro fratelli e altrettante sorelle tutti sani, divenne il favorito di un lebbroso, si coricò con lui e prese il male. In Ispagna, soggiunge l'autore, la lebbra è diminuita od aumentata secondo che si osservarono o meno le misure profilattiche.

Vi sono di quelli che sostengono che questa malattia si propaghi soltanto per eredità; ma tale opinione merita conferma dopo gli studi di Leloir, di Daublez, di Vossius, ecc., i quali, appoggiati a buoni argomenti, asserirono che questa malattia è contagiosa. Recentemente (1889) il dott. Zambaco negò ogni contagio.

Vibrione colerigeno (*Kommabacillus Koch*). — Questo microrganismo è stato scoperto dal Koch nel 1883, che lo rinvenne nei cadaveri dei colerosi nelle Indie ed in Alessandria d'Egitto.

Visto al microscopio a forte ingrandimento si presenta incurvato a segmento di circolo (figura 29, *a*), ragione per cui l'autore tedesco lo denominò bacillo virgolato. È grande circa come quello della tubercolosi, ma è più grosso di esso. In colture giovani si trova isolato, oppure unito a due o a tre individui, presenta allora facilmente delle forme a diplococco, ad *S* ed a semicerchio. In colture un po' vecchie dà abbondanti filamenti, di solito spirali, chiamati spirilli; vi si possono anche rinvenire filamenti ingrossati a clava od a sfera ad una oppure a tutte due le estremità (fig. 29, *c*). In colture vecchie si trovano forme così degenerate che non è più possibile di riconoscerle, e se si vuole studiarle, è mestieri di riprodurle per poi osservarle in colture recenti.

Quando le dette colture vecchie sono in substrati nutrienti, liquidi o liquefatti, presentano alla loro superficie degli ammassi fioccosi, composti di filamenti ospirilli di Komma raggomitolati e più o meno intrecciati.

Il vibrione colerigeno è distintamente mobile; non sporifica mai, nè nell'interno dell'organismo, nè fuori di esso. Perisce presto in presenza della siccità; invece si conserva a lungo, per oltre due mesi, nell'acqua, ancorchè questa sia distillata.

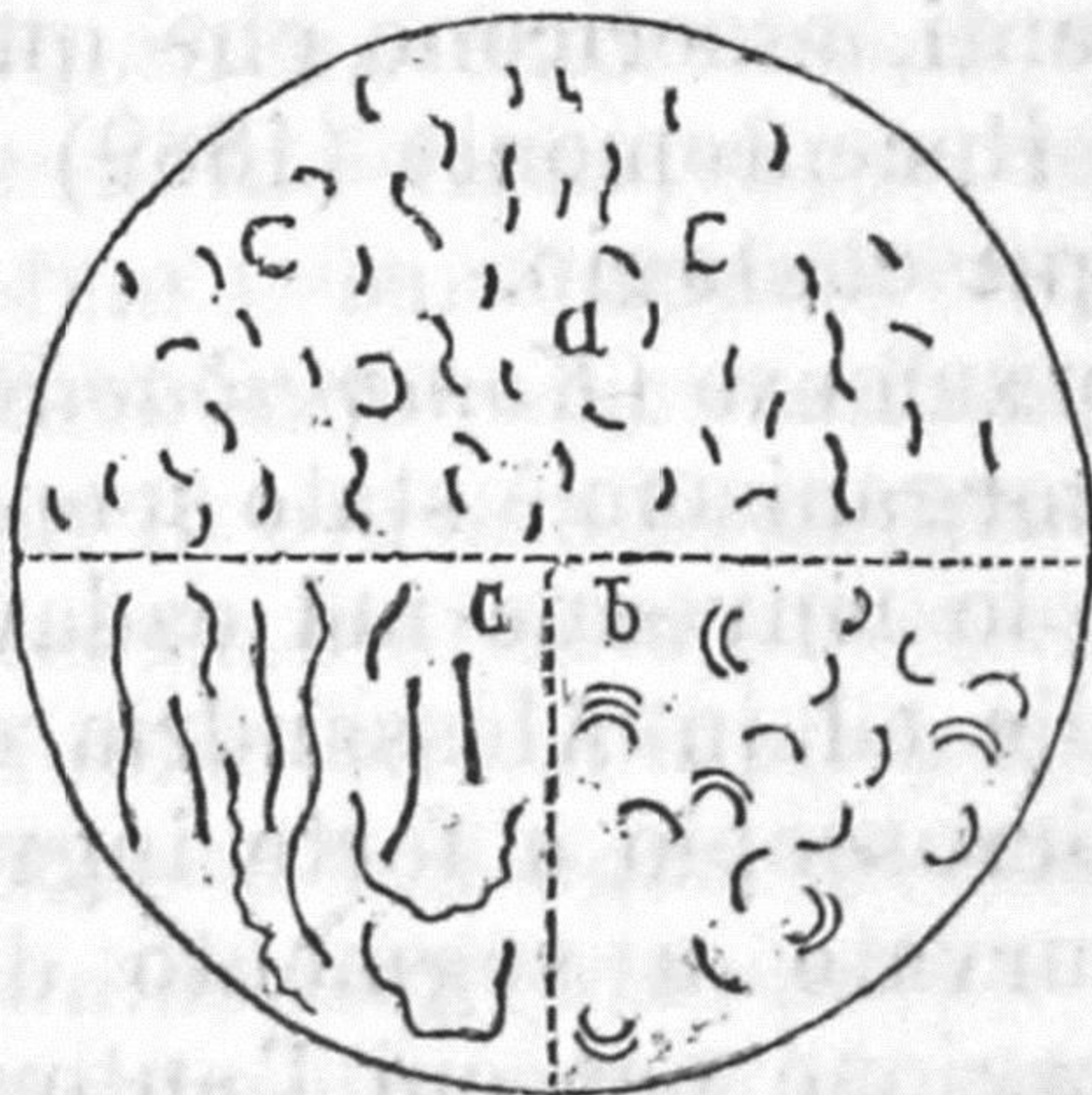



Fig. 29.

Una temperatura di 45°-50° lo distrugge. Morfologicamente il vibrio di Finkler et Prior del *cholera nostras*, quello di Emmerich scoperto a Napoli e quello di Lewis (scoperto da Miller) della bocca, somigliano così al colerigeno, che ben facilmente si possono confondere l'uno coll'altro. Ecco la ragione, per la quale sulla sola forma non è sempre possibile di formulare il diagnostico.

Questo vibrione si trova nell'intestino dei colerosi e nelle loro dejezioni in numero ora più ed ora meno grande; nei casi di colera fulminante è abbondantissimo.

Quando si faccia un preparato dalle feccie che lo contengono, che generalmente sono molto scorrevoli ed hanno un aspetto biancastro caratteristico (acqua di riso), lo si osserverà quasi sempre mescolato ad altre forme. Siccome poi morfologicamente parecchi microrganismi, come testè abbiamo detto, somigliano al vibrione del colera, così la diagnosi dall'esame delle dejezioni è talora assai difficile, ed anche chi è molto pratico in questo genere di studi ricorre alle colture sulle piastre prima di emettere un giudizio definitivo. Tanto per farne preparati sui vetrini coprioggetti, come per disseminare il materiale in gelatina allo scopo di averne poi le colture sulle piastre, si procura possibilmente di pescare uno dei piccoli fiocchetti di muco biancastri che si trovano sospesi nel liquido. Le colonie di vibrione colerigeno, che in capo a 2-4 giorni si trovano di già bene sviluppate, presentano un aspetto peculiare; sono di forma circolare, hanno margine frangiato e l'aspetto cristallino; sembrano un mucchietto di piccoli cristalli.

Col pescacolonie è facile allestire preparati di controllo e farne trasporti in tubi di assaggio; se per caso in questi le colture non si sviluppano *pure*, con un po' di materiale di queste nuove colture si fanno piastre ancora, finchè si riesce nell'intento. Si tinge bene con tutti i colori di anilina e specialmente colla fucsina. Il bacillo virgola come è caratteristico in colonie nella gelatina peptonizzata sulla piastra, così lo è del pari nelle provette contenenti la stessa sostanza ed infettate per infissione. Dopo 2-3 giorni ad una tempera-

tura di 20°-22° la coltura di Komma presenta un imbuto ben distinto e sormontato da una bolla caratteristica.

Mentre il vibrione colerigeno si trova costantemente nei colerosi, esso manca nelle persone che non lo sono. Il Koch ed altri hanno esaminato con molta pazienza le dejezioni di ammalati non colerosi, e di persone sane, ma mai hanno rinvenuto il microrganismo in discorso. La sua sede nelle persone affette di colera è il contenuto dell'intestino e il tessuto del tenue; non si trova mai nè nel sangue, nè nelle urine. La sua azione sull'intestino che invade non è forse ancora perfettamente conosciuta. In generale si ammette che sia legata alla formazione di un prodotto tossico. Siccome lo sviluppo del vibrione colerigeno è rapido, così è opportuno di cercarlo presto dopo incominciata la *diarrea premonitoria* nell'intestino o nelle dejezioni; altrimenti succede che esso, raggiunto ben presto un massimo di sviluppo, comincia a farsi raro finchè scompare.

Il vibrione colerigeno si riproduce bene nelle sostanze di nutrizione le più svariate, purchè la loro reazione sia neutra o leggermente alcalina; esso ha in orrore, per così dire, l'acidità. È però vero che tuttavia si sviluppa bene sulle patate, tenute in stufa a circa 30°, dove forma uno strato giallo-scuro non molto diverso dalle colonie di moccio. Il brodo, il latte, il siero di sangue, l'agar-agar, sono per esso eccellenti substrati di nutrizione. Il siero solidificato si fluidifica per lo sviluppo di questa forma, come pure si fluidifica la gelatina peptonizzata. In colture in brodo o

comunque liquefatte le forme hanno tendenza ad allungarsi e ad incurvarsi (fig. 29, *b*).

Recentemente si è studiata la reazione colorante delle colture di vibrio colerigeno in presenza degli acidi minerali. La conclusione a cui si è giunti (Iadasshon) è la seguente: Colture pure del vibrione colerigeno in una soluzione nutritiva contenente peptone, dopo un certo tempo, assumono, dietro aggiunta di acido cloroidrico, un colore rosso, che finora non è stato riscontrato in nessun'altra forma di batterio.

L'infezione negli animali si ottiene difficilmente; però si riescì ad avere la sindrome fenomenica del colera tanto nei cani, quanto nei conigli e nelle cavie.

Spesso si fa l'importazione del materiale infettante direttamente nel duodeno, previo un taglio corrispondente nella regione addominale.[1] In altro modo secondo il metodo di Koch, si eseguisce l'iniezione stomacale della coltura netta dei microbi in brodo, preparando in antecedenza l'animale come segue: si portano nello stomaco 5 cmc. di soluzione di soda al 5 $^0/_0$, e dopo 40 minuti si importano 10 cmc. di coltura pura in brodo; poscia nel cavo peritoneale si fa una iniezione di tintura di oppio nella proporzione di 1 cmc. per ogni 200 gr. di peso dell'animale.

Il colera asiatico è malattia da infezione che

---

[1] Dagli esperimenti fatti da Pagliani, Canalis e Maggiora risulta che l'infezione nel duodeno delle cavie riuscirà tanto più facilmente, quanto più gli animali saranno tenuti a digiuno, e che l'inoculazione del materiale è meglio farla nell'ampolla duodenale, piuttosto che in altre porzioni di detto intestino.

ha la sua patria nei paesi del Gange e che, almeno nei paesi civili, è destinata a scomparire. Dal 1835 al 1887 l'Italia fu visitata 20 volte da questo morbo crudele. Non vi hanno rendiconti completi per le epidemie anteriori al 1865. In quest'ultima epoca si registrarono in tutte le provincie che allora formavano il Regno 12,901 morti di colera; nel 1866, 19,571: nel 1867, 128,075; nel 1884, 14,299; nel 1885, 3459; nel 1886, 26,373; nel 1887, 6842.

La via d'entrata del microbio nel nostro corpo è la bocca, ed è escluso in via assoluta, salvo casi eccezionali, che vi possa penetrare, almeno allo stato vivente, col mezzo dell'aria, giacchè la siccità lo uccide in brevissimo tempo, cioè in poco più di un'ora.

Restano dunque i cibi liquidi e solidi, ed è su questi che noi dobbiamo richiamare tutta la nostra attenzione. Il veicolo più comune, col mezzo del quale esso penetra nello stomaco, è certamente l'acqua; ne viene di necessità di renderla innocua prima di ingerirla. Ciò si ottiene facilmente bollendola, od almeno portandola ad un punto prossimo all'ebollizione. A quelli che per qualsiasi ragione non volessero usare l'acqua bollita, si può consigliare la limonata, purchè non sia troppo debole. A chi non possedesse limoni, si può consigliare l'uso dell'acido tartarico. Aggiungendo ad un litro di acqua comune 2 gr. di questo acido, che si neutralizza dopo un'ora o poco più con altrettanta quantità di bicarbonato di soda, si ha una bibita gazzosa perfettamente innocua.

Osserviamo ancora che il vino e certe birre ricche di alcool o che contengono una certa quantità di acido acetico, costituiscono dei mezzi improprii allo sviluppo di questi esseri.

Oltre all'acqua un veicolo di trasporto dei vibrioni colerigeni possono essere anche le frutta fresche e le insalate; è cosa dimostrata che le une e le altre conservano facilmente una certa umidità, e questa è sufficiente per tenerli vivi per qualche tempo se vi capitano sopra. Le insalate specialmente vengono spruzzate di acqua con frequenza dagli erbivendoli, perchè non perdano la loro freschezza, e certamente non l'adoperano bollita. Chi dunque vorrà usare di queste sostanze, dovrà precedentemente cuocerle. Ciò vale anche per quelli che non fanno l'acquisto sulla piazza, ma le possiedono in casa; giacchè tanto le insalate crude, quanto le frutta fresche e crude, predispongono l'organismo alla malattia. È inoltre utile che gli utensili, i quali vengono in contatto delle sostanze alimentari e della bocca, in epoca di epidemia siano lavati con acqua bollita o comunque sterilizzata. Il segreto principale per evitare il colera in epoca di epidemia è quello di non mettere in bocca che ciò che ha subìto l'azione del fuoco; si potranno fare delle eccezioni per alcune sostanze, nelle quali o sulle quali i bacilli virgola non possono vivere o nelle quali non possono trovarsi. Così fanno eccezione il ghiaccio di lunga data, e quanto viene portato sul luogo dell'epidemia ben condizionato (acque, vini, ecc.) da località non infette.

Alle mosche, lo ripetiamo, si muova una guerra

continua; noi dobbiamo ritenere senza esitanza ch'esse contribuiscono alla diffusione di molti germi infettanti (colera, tubercolosi, tifo, ecc.) e quindi alla diffusione di molte malattie infettive.

Si procuri di conservare lo stomaco acido per impedire che se, malgrado le nostre precauzioni, qualche vibrione vi penetra, non possa passar oltre inalterato; ma venga in esso ucciso o reso innocuo dall'acidità che vi trova. Pare che l'acidità del succo gastrico di uno stomaco che funziona bene e con un regime regolato sia sufficiente da sè a togliere al vibrione colerigeno la proprietà di riprodursi. Sarà quindi da consigliare in epoca di epidemia di prendere cibi atti ad eccitare la secrezione del succo gastrico, di non usare brodi ed acque in quantità notevole, giacchè si fermano troppo poco nello stomaco, lo fanno lavorare scarsamente e diluiscono di molto la sua acidità. Si eviteranno le sostanze alcaline, e quindi l'indigestione, per es. del bicarbonato di soda. Le cattive condizioni dello stomaco per indigestioni, per eccessivo uso di alcoolici, per catarri, ecc. favoriscono lo sviluppo del microbio una volta che vi sia penetrato. Si abbia dunque molta cura per quest'organo e si conduca vita regolata.

Le sostanze vomitate e le dejezioni alvine di un coleroso debbono essere disinfettate rigorosamente, [1] come pure le biancherie sporche sulle

[1] Il Koch ha trovato che il vibrione colerigeno soggiace presto nella lotta per la vita coi microbi della putrefazione, e che gettato anche in grande quantità nelle fogne perisce in 24 ore, dopo il quale tempo non si potrebbe più in nessuna maniera

quali i microbi possono riprodursi e conservarsi in vita per molti giorni. È necessario isolare l'ammalato e le materie che esso emette in modo che i bacilli colerigeni non possano penetrare nell'acqua, nel qual caso, per la grande resistenza che hanno in questo elemento, con facilità si diffondono.

Dell'importanza dell'acqua abbiamo parlato altrove (pag. 47), nè qui ritorniamo sull'argomento.

Il riscontrare in essa il vibrione colerigeno è cosa assai difficile. Il Koch è giunto a trovarne in quantità in un serbatojo, da cui l'acqua veniva levata per l'alimentazione e per i diversi usi domestici di una popolazione in un piccolo villaggio nei dintorni di Calcutta.

Il Koch ha stabilito che le dejezioni dei malati erano state mescolate a quest'acqua, e che essa aveva servito a lavare delle biancherie sporche. Gli abitanti del vicinato per i loro usi quotidiani non impiegavano altra acqua, e sopra 2 a 3 cento persone, 17 morirono di colera.

Recentemente il dottor Gamaleja è riescito a rendere maggiormente virulento il vibrione colerigeno ed ha isolato un virus col quale eseguire vaccinazioni anticoleriche. Coltivando codesta forma dapprima in un porcellino d'India e successivamente in un piccione, il virus acquista

constatarlo. Più recenti studi in quest'argomento, istituiti da Canalis, Di Mattei, Kitasato e Uffelmann, hanno però dimostrato che la sua resistenza nella materia fecale è maggiore di quella trovata dal Koch, e i due ultimi autori, in seguito a proprie esperienze, sono arrivati a concludere che possa conservarsi vivo e atto a produrre la malattia per quattro giorni in una materia affatto simile a quella delle fogne.

tale intensità che il sangue del piccione che contiene il microbio, riesce fatale ad altri piccioni.

Se il virus viene scaldato a 120° C. per 20 minuti, i vibrioni colerigeni muoiono, ma rimane una sostanza tossica. È questa che costituisce il vaccino anticolerico, e che, somministrata in piccole dosi ai piccioni, li rende refrattarii al virus più forte. Il dottor Gamaleja propone che questo vaccino anticolerico venga adottato per proteggere l'uomo dalla infezione colerica (*Gazzetta Medica lombarda*, 1889, febbr. 9).

Bacillo del tifo addominale. — Il microrganismo specifico della febbre tifoide, ileo-tifo o tifo addominale, è stato scoperto nel 1880 da Eberth, che lo rinvenne nelle parti profonde dell'intestino non ancora ulcerato, nelle ghiandole mesenteriche, nella milza, nel fegato e nei reni. È un bacillo piuttosto corto e grosso, colle estremità rotondate, mobile, il quale di sovente porta nel suo interno una o più spore. In coltura pura ora è separato ed ora unito in due o più elementi in modo da originare brevi catenelle o filamenti. La ricerca di questi microbi non riesce difficile, quando si stia attenti alle lesioni anatomiche, alle ulcerazioni delle placche di Payer e dei follicoli chiusi dell'intestino, alla tumefazione dei gangli linfatici del mesenterio e della milza, alle lesioni parenchimatose del rene e del fegato. La loro colorazione riesce bene servendosi, come già si disse, del metodo di Koch-Loeffler; i preparati a secco sopra vetrini coprioggetti si tingono anche col metodo solito del Koch.

Il sangue, raccolto durante la vita degli am-

malati di tifo, mostra soltanto qualche volta dei bacilli specifici; più facilmente si rinvengono questi nella milza, divenuta ipertrofica, dalla quale si può estrarre del liquido a mezzo della siringa senza tormentare di soverchio l'ammalato. Se ci interessa di indurire un pezzo di quest'organo di un tifoso morto, per istudiare in esso i bacilli, sarà utile, per trovarli numerosi, di attendere qualche giorno prima di collocarlo nell'alcool. Gaffky sopra 22 milze di tifosi, di cui ha esaminato le sezioni, ha trovato in 20 di esse i bacilli disposti in piccoli isolotti o colonie; tale disposizione è caratteristica, e ciò non soltanto per quest'organo, ma anche per il fegato, per gli intestini, per i gangli mesenterici, per i reni, ecc.

La coltivazione di questo bacillo fuori dell'organismo animale riesce abbastanza facilmente. Fu il Gaffky il primo che giunse ad isolarlo prendendo del materiale dalla milza e trasportandolo in gelatina peptonizzata.

L'aspetto delle colonie nei substrati solidi e trasparenti del Koch non è caratteristico. Osserviamo soltanto che la gelatina non viene fluidificata. Sulla patata lo sviluppo è abbastanza rapido; la colonia ha un colore non dissimile dal substrato su cui prospera, per cui apparisce appena visibile come una leggera e sottile pellicola. Alla temperatura di 37°-38° sporificano presto, a temperature più basse la sporificazione si va facendo sempre più lenta, finchè al disotto di 20° non avviene più. Birch-Hirschfeld ha coltivato i bacilli del tifo in substrati di nutrizione colorati con fucsina, e vide che la colonia si sviluppava bene e che i bacilli erano tinti.

L'inoculazione del materiale infettivo negli animali rimane di consueto senza alcuna azione. Recentemente però Fraenkel e Simmonds, con l'iniezione di colture pure dei bacilli tifoidi nel cavo peritoneale dei sorci bianchi, sono riesciti a dar loro una infezione, il cui quadro ricorda appunto la febbre tifoide.

In quanto alla diffusione dell'infezione poco abbiamo da aggiungere a quanto è stato detto rispetto al colera asiatico. Come quest'ultimo anche l'ileo-tifo si propaga a mezzo dell'acqua, che viene inquinata dei microbi specifici colle deiezioni alvine degli individui che ne sono affetti, od in altro modo. Se qui si volessero riportare i casi, in cui si ebbe la scomparsa di un'infezione tifica per il miglioramento o la sostituzione di un'acqua potabile ad un'altra, troppo ci sarebbe da dire, e d'altra parte anche i meno istruiti in questioni d'igiene conoscono, fosse pure per sola tradizione, i prodigiosi vantaggi di un'acqua veramente buona in epoca di infezione tifica. Nè dobbiamo noi pensare soltanto al miglioramento delle nostre acque di città, che anzi quelle di campagna possono ad un tratto importarci una virulenta infezione. I contadini che non sanno che cosa sia igiene, e trascurono la pulizia, tengono troppo di frequente intorno alle loro case per sè stesse spesso male aerate, umide e sudicie, dei depositi di sostanze putride; e non raramente le concimaje, le latrine ed i pozzi, da cui attingono l'acqua per bere, sono in diretta comunicazione fra di loro. I danni che derivano alla pubblica igiene da un tale stato di cose, è facile imma-

ginare, specialmente poi se in una di quelle catapecchie si sviluppa una malattia da infezione, come appunto il tifo, il colera ed altre simili. Più volte si constatò che dalle campagne il tifo è stato portato in città a mezzo del latte. Questo fatto è di facile spiegazione, quando si pensa che i vasi, in cui esso viene collocato, si lavano più o meno con acqua, senza voler qui sollevare il sospetto che talvolta, se non sempre, una certa quantità di essa vi è mescolata a scopo di lucro. Comunque, noi sappiamo che una sola goccia di acqua può infettare, contenendo i microbi specifici, una grande massa di liquido, e con maggior ragione del latte, nel quale per di più i microbi trovano un substrato di nutrizione assai adatto, e possono in esso rapidamente riprodursi.

In Italia la febbre tifoide porta annualmente una strage significante. Si calcola che ogni anno ammalino 200 mila persone, ossia il 7 per 100 degli abitanti, che di solito sono compresi fra i 15 ed i 40 anni di età. Fra i colpiti muoiono dai 10 ai 15 %, ossia in complesso dai 40 ai 45 mila. Queste cifre, quando saranno migliorate le condizioni igieniche delle case, del suolo e dell'acqua potabile, diminuiranno di molto, e non accadrà così sovente che una famiglia si veda rapire delle persone care nel fiore degli anni e nella pienezza delle forze fisiche.

Se gli esperimenti del Brieger, il quale ottenne negli animali l'immunità per il tifo a mezzo della tifotossina (vedi pag. 41), saranno applicabili con successo all'uomo, le cifre citate subiranno un ribasso anche più notevole.

Da alcuni fatti, che sembrano bene constatati, apparisce che in determinati casi vi possa essere il passaggio del bacillo della febbre tifoidea dalla madre al feto traverso la placenta.

Bacillo della Morva (moccio, farcino, cimurro). — Si riscontra nelle secrezioni patologiche degli animali colpiti da questa malattia. Nei nodi mocciosi del polmone e della milza i bacilli sono più numerosi che altrove; basta infatti sezionare uno di questi prodotti patologici, prendere coll'ansa di platino un po' di materiale, e farne un preparato colorato, per vedere nel campo del microscopio i bacilli in numero abbondante. Levati così dall'animale, essi somigliano assai ai bacilli tubercolari, sebbene sieno alquanto più grossetti; coltivati nei diversi substrati di nutrizione si modificano alquanto, e per la grossezza che vanno assumendo perdono molto la somiglianza coi bacilli già ricordati; sporificano facilmente ed hanno movimenti abbastanza vivaci. La colorazione dei bacilli fissati sui vetrini coprioggetti riesce bene con qualunque liquido di tinzione; se però essi sono contenuti nelle sezioni, la colorazione riesce più difficilmente. In questo caso si ricorre di solito al metodo di Loeffler.

Per averne le colture nette, si prende il materiale, colle regole dell'antisettica, da un nodo moccioso, e se ne fanno direttamente trasporti nelle gelatine; le colture si sviluppano pure o si rendono tali a mezzo delle piastre. Sul gelosio glicerinato lo sviluppo a 37° avviene assai presto e bene.

In generale la riproduzione di questi micror-

ganismi si arresta sotto 20° e sopra 43°; a 55° i bacilli muoiono. Affatto caratteristiche sono le colture sulle patate. Ormai al secondo giorno si vede sulla superficie di sezione disseminata uno strato sottile, giallastro, trasparente, il quale più tardi assume colore di ambra, e in capo a 6 od 8 giorni tutta la coltura da trasparente si rende opaca e assume una tinta rossastra.

Le colture di bacilli del moccio hanno azione virulenta sui solipedi e rosicanti, specialmente asini e cavie; vanno affetti di moccio anche alcune varietà di topi, la capra e la pecora e i cani giovani. Importati i bacilli specifici nelle narici di un asino, sia a mezzo di una siringa il cui ago viene infitto nella mucosa, sia semplicemente spalmando la superficie interna di una o di tutte due le cavità nasali col mezzo della coltura e poi praticando con un bisturino delle leggere incisioni od abrasioni, dopo un paio di giorni l'animale si presenta di già ammalato; i sintomi caratteristici del moccio nella sua forma acuta si vanno facendo sempre più manifesti e sul 6-7 giorno l'asino muore. Le cavie s'inoculano alle narici, come nel caso precedente, oppure importando il materiale infettivo sottocute al lato ventrale in prossimità dei capezzoli; questi animali dopo 4-5 giorni si mostrano indisposti, e portano il pelo irto, in seguito ammalano sempre più e cessano di vivere dopo 14-16 giorni; talvolta nella regione addominale si formano delle larghe ulcerazioni che riducono l'animale negli ultimi giorni di vita in condizioni veramente misere. Tanto nel caso dell'asino, come

in questo delle cavie, noi ci troviamo davanti alle lesioni caratteristiche della morva acuta, e possiamo a nostro agio prendere del nuovo materiale tanto per farne colture, quanto anche per infettare nuovi animali. Nei cavalli la morva non presenta sempre il medesimo quadro clinico, e senza qui entrare in dettagli ci accontentiamo di dire, che mentre in alcuni casi, specialmente a decorso rapido, il medico veterinario sa formulare una diagnosi precisa sino dal primo apparire del male, in altri rimane indeciso fino all'ultimo momento e non si pronuncia definitivamente che dopo l'autopsia dell'animale. Le ulcerazioni della mucosa nasale, l'ingrossamento delle ghiandole e lo scolo nasale, non sono caratteri costanti. Il medesimo virus inoculato a una serie di animali differenti darà sia una semplice ulcera locale, sia una infezione a manifestazioni locali diverse, sia una infezione generalizzata. Così del pari i cavalli conviventi in una medesima scuderia infettata verranno colpiti da forme farcinose le più svariate, e fra queste quella limitata ai soli polmoni, specialmente al suo primo apparire, non è facile diagnostizzarla.

I casi di morva nell'uomo disgraziatamente non sono troppo rari; le persone poco istruite in fatto d'igiene e che si trovano spesso in contatto di cavalli o convivono con essi, sono quelle che più ne vanno affette; così i carrettieri.

Quando nei cavalli mocciosi si ha scolo nasale, si può tentare in questo la ricerca dei bacilli specifici; non è però facile rinvenirli. In questi casi invece noi abbiamo trovato tanto in esso scolo,

quanto nel pus del polmone, uno streptococco assai patogeno per i conigli e per i sorci bianchi.

Non è ancora esattamente stabilito, in quali e quanti modi l'infezione possa propagarsi,[1] certo è che la convivenza di animali ammalati con altri sani è sempre pericolosa, specialmente se mangiano e bevono dai medesimi recipienti. Appena un animale presenta i primi sintomi di affezione morbosa, deve essere isolato dagli altri, tenuto d'occhio, e, se vi è il pericolo che possa portare danno ai compagni, ucciso senza attendere troppo; dopo di ciò si praticherà una completa disinfezione del luogo da esso abitato.

Bacillo della difterite dell'uomo. — Questo microbio è stato messo in evidenza dal Loeffler, che lo trovò nelle parti più vecchie e più profonde delle membrane difteriche. Viene descritto come un bacillo circa eguale in lunghezza a quello della tubercolosi, ma notevolmente più grosso ed avente le estremità rigonfiate. Si colora intensamente col bleu di metilene (metodo di Loeffler pag. 136), e si presenta ora diritto ed ora curvo.

Lo studio microscopico delle false membrane difteriche ci ha fatto conoscere altri microrganismi, di cui il più frequente è uno streptococco (*Micrococcus diphthericus Cohn*), al quale si attribuisce un'importanza affatto secondaria.

Loeffler è riescito ad isolare il bacillo in discorso trasportando dei pezzetti di false membrane in siero di sangue solidificato e preparato

[1] Cadéac e Malet hanno persino constatato la trasmissibilità della morva dalla madre al feto attraverso la placenta.

col mescolare tre parti di siero di sangue di vitello o di montone con una parte di brodo di vitello, a cui siano aggiunti dello zucchero e del peptone. Si sviluppa bene a 37°, cessa di riprodursi sopra 42° e sotto 20°. Babes conservando delle colture per parecchie settimane sui 18°-22° ottenne dei bacilli sporificanti, che dànno luogo a delle forme bizzarre.

L'infezione è riescita sopra molti animali, le cavie sembrano sensibilissime; inoculate sotto cute, muoiono presto presentando un edema nella località dove si è praticata l'inoculazione; esito eguale ebbero gli sperimenti fatti sopra piccoli uccelli. I conigli muoiono pure, ma con minore costanza. L'inoculazione nella trachea, previa irritazione o lesione della mucosa, determina (nei conigli, polli, e piccioni) la formazione di false membrane.

Secondo alcuni autori i sintomi generali della difterite sono legati all'esistenza di un veleno prodotto dai bacilli, che spesso più tardi, sul chiudersi del ciclo della malattia, scompaiono.

Bacillo del tetano. — L'opinione che il tetano costituisca una malattia contagiosa non è nuova. Tale opinione attualmente è convalidata dalle ricerche di Rattone, di Nicolajer, Bonome, Giordano e di parecchi altri, i quali sono pure arrivati alla scoperta del microbio specifico, che è un bacillo. Il tetano, secondo i recenti studi, non è mai spontaneo, ma proviene dalla penetrazione di materie infettive nell'organismo per una soluzione di continuità traumatica, esterna od interna.

Prendendo materiale adatto da un individuo

tetanico ed inoculandolo nel connettivo sottocutaneo dei conigli, topi e cavie, si produce in essi il tetano generale. Bonome ha determinato lo sviluppo della malattia negli animali inoculando loro la polvere dei calcinacci di una chiesa crollata a Bajardo, dove vi furono 70 feriti, 9 dei quali vennero colpiti da tetano. È interessante di aggiungere che tanto all'esame delle materie essudate nella località dell'innesto, come pure a mezzo dello studio delle colture fatte colla polvere dei rottami, si è trovato il bacillo del tetano colle sue caratteristiche proprietà morfologiche e biologiche. Studi ulteriori porteranno su questo argomento maggior luce; intanto si descrivono i bacilli, che sono fini, setolosi, lunghi due o tre volte quelli della tubercolosi ed alquanto più spessi, ritti, immobili, aventi le estremità leggermente rotondate, mentre parecchi di essi presentano ad una delle estremità un rigonfiamento totalmente colorabile, in guisa da dare, visto al microscopio, un aspetto spilliforme (Bonome).

Malgrado le opposte opinioni oggi prevale il concetto che il tetano sia malattia microbica, infettiva, direttamente inoculabile attraverso a lesioni traumatiche con particelle di terreno, e trasmissibile dall'uomo agli animali. I piccoli roditori, a cui si porta della sostanza infettante in una saccoccia scavata sotto la cute, muojono in poche ore con tutti i sintomi del tetano.

Nella località dell'innesto, in mezzo a microrganismi diversi, si trovano anche le forme caratteristiche sopra descritte. Si è importando dall'animale morto all'individuo sano dell'essudato

della saccoccia, scavata come si è detto, che si sviluppa nel secondo in breve tempo la malattia che portò a morte il primo.

Le colture pure di questo microrganismo non sono ancora state ottenute.[1]

Bacillo della setticemia[2] dei topi. — Ricordiamo questo microrganismo, perchè ha varie note caratteristiche. Morfologicamente, fra i bacilli finora conosciuti, è il più piccolo, poichè la sua lunghezza è di 0,8-1,0 μ e la sua larghezza di circa 0,1-0,2 μ. Somiglia alquanto a quelli della tubercolosi senza che però sia con essi confondibile. È sovente leggermente incurvato, ed in colture un po' vecchie si presenta riunito a più elementi, e talvolta forma dei fili abbastanza lunghi. È probabile che sia sporificante, poichè nel suo interno si videro dei corpicciuoli lucenti; se sia mobile o meno, non è cosa constatata, in ogni caso la mobilità sarebbe limitatissima. Non è decisamente nè aerobio, nè anaerobio; Baumgarten lo chiama *aerobio facoltativo*. Si tinge bene coi colori violetti di anilina. Ognuno può

---

[1] Il bacillo del tetano, come tanti altri microbi, è anaerobio. I diversi metodi per ottenere le colture delle forme anaerobie sono descritti in tutti i testi un po' estesi di tecnica batteriologica, ma non sempre sono di facile applicazione, specialmente per chi non abbia una certa pratica negli studi batteriologici in generale.

[2] Setticemia e piemia sono due parole che in batteriologia si odono con una certa frequenza. L'una e l'altra esprimono un'alterazione profonda del sangue, una vera *discrasia*. Nella prima però si ha alterazione generale del sangue senza localizzazione; nella seconda si osservano per di più processi di infiammazione localizzati in varie parti del corpo (ascessi piemici).

procurarselo in modo semplice in coltura netta valendosi dei topi bianchi. Se inoculiamo uno di questi animali con un liquido putrido, esso in un gran numero di casi muore; se col suo sangue facciamo delle infissioni o delle disseminazioni in gelatina peptonizzata, otteniamo la coltura del bacillo in discorso, la quale se non sarà pura, si renderà tale usando delle piastre oppure infettando un altro topo per poi prendere da questo dell'altro sangue da trasportare in gelatina peptonizzata. La colonia ha in questa un aspetto caratteristico; lungo il canale d'infissione si vede un intorbidamento generale, e dal canale partono in tutte le direzioni dei finissimi filamenti, i quali essendo molto stipati fanno assumere a tutta la coltura l'aspetto che tanto la distingue. Il substrato non viene fluidificato.

È strano, come già altra volta si disse, che questo bacillo tanto micidiale pei topi bianchi non lo sia punto pei topi campagnuoli, e d'altra parte sia virulento per le passere e per i colombi che nella scala zoologica sono tanto discosti dai primi.

Bacillo del Mal rosso dei suini. — Per questa infezione dei majali, chiamata anche colera dei suini, febbre enterica o pneumo-enterite, furono descritti dagli autori microrganismi diversi. Pare però che spetti al Loeffler la scoperta della forma specifica, che si presenta sotto l'aspetto di un piccolo bacillo assai affine a quello della setticemia dei topi, che abbiamo sopra descritto. In coltura netta in gelatina peptonizzata si comporta pure come quello della setticemia. Fra questi due microrganismi vi è dunque grande affinità; anzi

qualche autore, come il Baumgarten, li crede assai probabilmente identici.

La malattia è caratterizzata dall'apparizione sulla pelle dei majali di macchie rosse irregolari; esse sono specialmente evidenti alle orecchie, al petto, al ventre, alla faccia interna delle coscie.

La morte, che avviene con molta frequenza, si presenta talvolta ancora nelle 24 ore dopo l'apparsa dei primi sintomi, mentre più comunemente tarda fino al 4° o 5° giorno. All'autopsia si trovano nei visceri numerose lesioni, di cui le principali sono quelle dell'intestino.

Il sangue ed il succo degli organi racchiudono i microrganismi in numero assai grande.

I conigli ed i topi, ai quali si iniettano colture pure di questo bacillo, muoiono in 3 a 5 giorni; alla sezione presentano la milza ingrossata e delle echimosi polmonari.

L'infezione si propaga specialmente a mezzo degli escrementi. L'uso della carne per parte dell'uomo non è nocivo, poichè la malattia ad esso non si trasmette.

Dell'innesto preventivo Pasteur abbiamo già parlato altrove (pag. 39), nè qui perciò ritorniamo sull'argomento.

Cocco-batteride del colera dei polli (*o della tifoide dei polli*). — Il colera dei polli è malattia parassitaria tutt'altro che nuova, e in questa o quella Provincia fa capolino forse ogni anno, assumendo talora proporzioni estese a danno di un commercio, che costituisce una vera risorsa per tanta gente povera, che esercita la pollicoltura per averne un qualche guadagno.

Il pollo ammalato ha di solito diarrea profusa, è estremamente abbattuto e sonnolento, non razzola più, tiene le ali e la coda penzoloni, le penne del corpo alquanto raddrizzate, la testa bassa, non mangia o lo fa svogliatamente, cerca il sole, cammina lento, fa la cresta rosso-violacea, e così più o meno intensamente tutta la pelle del corpo, in fine non si sorregge sulle zampe, cade e muore.

La malattia è determinata da cocco-batteri, che d'ordinario sono uniti a due e dànno luogo a delle forme ad 8. Tali microrganismi si riscontrano nel sangue dell'animale, nell'intestino e nelle feci; si tingono bene con quasi tutti i colori di anilina e col metodo semplice del Koch. Se si porta una goccia di sangue di un pollo ammalato o morto sotto la cute di un pollo sano, questo ammala ed in un tempo variabile, che di solito non supera i tre giorni, muore coi sintomi caratteristici della malattia. Così se leviamo una gocciolina di sangue — colle regole dettate dalla tecnica batteriologica — da un pollo morto di recente e facciamo con essa delle disseminazioni nelle gelatine di nutrizione o nei brodi, otteniamo le colture del microbio specifico, le quali inoculate in polli sani determinano anch'esse la malattia e la morte.

Le colture nei diversi substrati di nutrizione non hanno alcuna caratteristica. In gelatina peptonizzata si sviluppano senza fluidificarla. Talvolta abbiamo osservato che questo microrganismo produce colonie leggermente tinte in giallognolo.

Il Pasteur dice che se da una coltura si prendono dei microbi e si collocano sopra sostanze alimentari, e queste si dànno da mangiare ai polli, essi ammalano e muoiono. Si comprende così come avvenga la diffusione della epidemia. Infatti, le deiezioni diarroiche dei polli ammalati, che vengono emmesse ovunque, contengono i microbi specifici, i quali infettano in tal guisa il cibo, l'acqua ed il suolo. I polli sani, che vengono in contatto con quelli ammalati, si trovano perciò in un ambiente pericoloso, eminentemente infettante, sempre atto a trasmettere loro la malattia.

A questa infezione non vanno soggetti i polli soltanto; ma anche le anitre, le oche, i colombi, i pavoni, i fagiani ed altri ancora.

Per evitare che la malattia si diffonda, il proprietario dei polli che ammalano avrà cura di impedire che essi escano da quel dato recinto dove è scoppiato il colera, ed i proprietarii confinanti faranno in modo che i loro polli non possano portarsi in contatto coi primi. È sempre utile separare immediatamente gli ammalati dai sani, obbligando questi, quando è possibile, all'aria libera e fresca in qualche recinto, che impedisca loro sia di rientrare nel pollaio, sia di disperdersi nell'aperta campagna. Occorre di più disinfettare per bene con soluzioni di acido fenico al 5 %, oppure di acido solforico al 5 ‰, oppure ancora di sublimato corrosivo al 3 ‰, i pollai, ed inaffiare con una di dette sostanze i cortili dove hanno passeggiato i polli ammalati.

È mestieri che sia tenuta grande polizia dappertutto, che i ricoveri sieno bene ventilati, asciutti

e spaziosi. L'alimento deve essere di buona qualità, cioè non mai putrido, ed apprestato in modo da impedire il più possibile ch'esso venga in contatto con gli escrementi. Più pericolosi ancora per la trasmissione della malattia sono gli abbeveratoi. Quando non siano tenuti con pulizia, troviamo in essi feci, terriccio ed altre sostanze, nelle quali i microbi (per l'ambiente umido) possono vivere e forse anche moltiplicarsi. Si abbia dunque cura di tenerli assai puliti e di rinnovare l'acqua con frequenza. Alcuni consigliano di abbeverare il pollame con acqua leggermente acidulata, oppure contenente una piccola quantità di iposolfito sodico. Noi abbiamo osservato che i polli bevono senza difficoltà il sublimato corrosivo all' 1 ‰, senza ch'esso porti loro alcun danno, e d'altra parte uccide prontamente i coccobatteri del colera. In vista del prezzo limitatissimo di questa bibita e della sua efficacia pronta e sicura, crediamo di consigliarla con vantaggio, poichè è certo che i cocco-batteri, che comunque vengono introdotti nell'abbeveratoio, vi incontrano la morte, ed è poi probabile che il liquido bevuto dal pollo, sebbene sia sempre in dose lieve, possa agire in modo deleterio sui microbi eventualmente ingeriti cogli alimenti.

Il trasporto di polli da luoghi infetti in località, dove la malattia non esiste, non dovrebbe farsi.

Sui mercati dei paesi, dove infierisce il male, si vedono ogni giorno molti polli colerosi vivi e morti, i quali naturalmente a mezzo delle feci vanno disseminando i microbi, allargando sempre più la cerchia dell'epidemia.

Di solito i pollivendoli, appena s'accorgono che il pollo ammala, lo uccidono; altrimenti per la tinta della cresta e della pelle viene riconosciuto troppo facilmente dai compratori per coleroso.

La carne dei polli morti di colera può essere mangiata impunemente; essa non ha alcuna azione nociva sul nostro organismo. Si noti poi che, siccome la malattia ha d'ordinario decorso rapido, l'animale dimagrisce poco o niente, e quindi la sua carne costituisce in ogni caso un cibo nutriente e saporito. Sarebbe tuttavia onesto che i pollivendoli facessero due categorie dei loro polli; che vendessero i colerosi ad un prezzo ridotto, elevando piuttosto di qualche poco il prezzo degli altri.

Per chi avesse una raccolta di gallinacei rappresentanti razze e specie di costo, sarebbe forse da consigliare l'innesto preservativo a metodo Pasteur (vedi pag. 37).

La vaccinazione preserva l'animale per circa un anno, nel qual tempo esso non muore, nemmeno se inoculato colle colture più virulenti.

Cocchi della pneumonite. — Nella pneumonite acuta lobare, fibrinosa, crupale, il Friedländer e il Frobenius hanno trovato nell'essudato alveolare fibrinoso, un cocco speciale (*Micrococcus pneumoniae*) che talora è isolato, più comunemente riunito a due od anche a corte catenelle di 3, 4 elementi. Nell'organismo umano, sia che si esamini direttamente l' essudato polmonare, sia ancora che si esaminino gli sputi dell'ammalato, i cocchi della pneumonite si osservano generalmente circondati da una capsula speciale,

vedi pag. 4, che si colora difficilmente, e che ha la forma breve od allungata a seconda del numero dei cocchi che racchiude. Si noti che la capsula, di cui parliamo, può in dati casi mancare, e scompa-risce poi ogni volta che coltiviamo i cocchi su patate, agar-agar, gelatina peptonizzata, o siero di sangue, mentre può essere ripristinata facendo colture in brodo a 35°-37°.

Un buon metodo, per ridonare le capsule ai cocchi che già le hanno perdute, è quello di ino-cularli nei topi bianchi; questi animali muo-iono presto ed in essi si troveranno i cocchi in-capsulati. La colorazione di questi microrganismi in preparato su vetrino coprioggetti, riesce bene tanto col liquido di Ehrlich (violetto di genziana in acqua di anilina), quanto col violetto di gen-ziana in soluzione acquosa, che si riscalda fino verso i 50° nel vetro da orologio contenente so-luzione e preparato.

Se si tratta dei cocchi contenuti in sezioni, Friedländer consiglia il liquido di tinzione se-guente:

Soluzione concentrata alcoolica di violetto di genziana	50
Acqua distillata	100
Acido acetico	10

In questa sostanza colorante si lasciano le se-zioni per 24 ore, poi si tolgono, si lavano in acqua leggermente acidulata (acido acetico 1, acqua di-stil. 100), si disidratano in alcool assoluto, si ri-schiarano in uno degli oli essenziali e si mon-tano in balsamo.

In gelatina si riproducono senza scioglierla; la colonia prende la forma di un chiodo. Crescono bene anche in siero di sangue e sulle patate.

Oltre che nell'essudato dei polmoni, Babès ha trovato i cocchi di cui parliamo anche nell'essudato della pleura, del pericardio, delle meningi, del peritoneo e dei reni.

Fin qui abbiamo descritto il *Micrococcus pneumoniae* di Friedländer, il quale avrebbe ancora per caratteristiche di non rimanere colorato col metodo di Gram e di non essere patogeno per i conigli. Ora dobbiamo accennare ad un'altra forma studiata, più che da altri, dal Fränkel e chiamata *Pneumococcus di Fränkel*, la quale anzi, secondo gli autori, sarebbe nelle pneumonie infettive assai più comune della precedente e dalla quale però differirebbe per alcuni caratteri. Cioè: questo pneumococco sarebbe colorabile col metodo di Gram e di azione virulenta sui conigli, avrebbe forma generalmente lanceolata, presentandosi nelle colture più delicato del precedente e mostrandosi ormai morto dopo 4-5 giorni. Il substrato di nutrizione da lui preferito è il gelosio (gelatina addizionata di agar-agar)

Foà, in una comunicazione fatta, nel dicembre 1888, all'Accademia di medicina di Torino, parla di un diplococco pneumonico che secondo l'autore sarebbe forse diverso dai due ora ricordati. Si tratta di cocchi lanceolati, mobili, capsulati, generalmente a monococco, scarsamente uniti a diplococco, colorabili col metodo di Gram, che non crescono nè in gelatina peptonizzata, nè sulle patate; che si presentano patogeni pei topi, spesso per le cavie e quasi sempre anche pei conigli.

Foà e Bordoni Uffreduzzi descrivono un'altra forma ancora di cocco, trovato nei casi di meningite cerebro-spinale epidemica nel liquido di essudazione meningea, come nel succo polmonare ed in quello della milza, e da loro chiamato *Meningococco*. Esso per la forma, per il modo di svilupparsi in gelatina e in brodo (in quest'ultimo senza produrre capsula), differisce da quello del Friedländer. Di più avrebbe la proprietà di essere patogeno per i conigli e non per le cavie. Si rinviene in casi di pneumonite lobare nell'uomo; iniettato direttamente nel polmone di un coniglio, dà luogo a pneumonite, nel cui essudato i cocchi si trovano in grande numero.

Dopo quanto si è riferito pare di dover ammettere che vi sieno varie specie di microrganismi patogeni capaci di produrre una pneumonite, senza che per ora si possa esprimere un giudizio preciso sopra l'importanza del *pseudo-diplococco pneumonico*, isolato da Bonome da un essudato siero-fibrinoso della pleura e delle meningi di un individuo morto da poche ore coi segni caratteristici di una grave infezione pneumonica.

Streptococco dell'eresipela di Fehleisen. [1] — Molti studiosi in casi di eresipela hanno trovato il micrococco in parola nei vasi linfatici della cute, nel tessuto connettivo sottocutaneo e nel tessuto adiposo. Secondo taluno pare che gli streptococchi in determinati casi possano penetrare anche nei

[1] Secondo alcuni il Micrococco dell'eresipela non sarebbe altro che lo Streptococco piogene.

vasi sanguigni della cute e quindi invadere tutto l'organismo. Fehleisen fu il primo ad ottenere le colture pure isolate ed a riprodurre la malattia nell'uomo e negli animali.

Lo streptococco dell'eresipela (*Streptococcus erysipelatis Zopf*) apparisce di solito in elementi riuniti a catene, talvolta lunghissime; misura circa 0,3 μ. Cresce abbastanza rapidamente in brodo ed in gelatina liquefatta; in agar-agar a 37° lo sviluppo è piuttosto lento; la colonia si presenta sotto forma di un nastro bianco, stretto, contornato da numerosi granelli molto minuti. In gelatina peptonizzata solida la colonia si sviluppa pure a nastro, non fonde il substrato, e si presenta a piccoli granuli più abbondanti in basso che in alto. Questo microbio cresce a contatto dell'aria ed anche senza il concorso dell'ossigeno atmosferico, per cui può dirsi un *anaerobio facoltativo*.

Inoculando colture di questi streptococchi nell'orecchio dei conigli, apparisce alla regione innestata un arrossamento; se coi margini della zona arrossata si fanno sezioni e preparati, si vedono i linfatici pieni di cocchi. Si colorano bene col violetto di metile. Dalle esperienze di Emmerich risulta, che i conigli adulti, bene nutriti, possono ricevere nel loro organismo 0,5 cc. di coltura pura in brodo di cocchi dell'eresipela per ogni 100 gr. di peso del loro corpo, senza che essi conigli vadano a perire. Di Mattei ha esperimentato con 5-6 cc. di coltura fresca in brodo su diversi conigli; nella località d'innesto vide rossore, tumefazione, ispessimento dei tessuti sottostanti. Importando il materiale direttamente in circola-

zione, nella vena auricolare, osservò fenomeni più gravi,[1] cioè alle articolazioni, specialmente posteriori, formazione di processi infiammatorii con rigonfiamenti che non permettono all'animale gli ordinarii movimenti; osservò diarrea con dimagramento rapido e assai evidente. In seguito gli animali guarirono portando però l'affezione cronica alle articolazioni. I topi bianchi inoculati, secondo alcuni (Flügge, Guarnieri), non contraggono alcuna infezione, secondo altri (Di Mattei) muoiono in 48-60 ore.

Micrococchi piogeni. — Costituiscono questi un gruppo di organismi che mai mancano in casi di lesioni accompagnate da suppurazioni acute. Così si rinvengono negli ascessi acuti, nei furuncoli, nei favi, nei panericci, nei flemmoni diffusi, nell'osteomielite acuta, nella flogosi suppurativa delle articolazioni, nella peritonite purulenta, nell'empiemia, nell'endocardite ulcerosa, nella piemia, nella febbre puerperale, nelle pustole del vaiolo, del vaccino, ecc.

I cocchi piogeni finora conosciuti sono parecchi: noi ricordiamo i più comuni: *Staphylococcus pyogenes aureus; pyogenes albus; pyogenes citreus; cereus albus; cereus flavus; flavescens. Streptococcus pyogenes; Str. pyogenes malignus; Str. articulorum; Str. septicus.* Questi cocchi si distinguono l'uno dall'altro per il diverso modo di comportarsi in gelatina, poichè alcuni la fluidi-

---

[1] Guarnieri iniettò dentro la giugulare di due conigli degli streptococchi dell'eresipela ed ottenne la morte di entrambi; dell'uno dopo 10 giorni, dell'altro dopo 15.

ficano ed altri no; di più alcuni producono pigmento, diverso a seconda delle specie, altri sono affatto incolori. Al microscopio parecchi si presentano a grappolo (stafilococchi); altri a coroncine (streptococchi); altri ancora non hanno una distribuzione precisa. In molti casi si hanno differenze peculiari a mezzo della infezione negli animali.

Tra queste diverse specie di cocchi piogeni non tutte sono egualmente frequenti. Dagli studi di Zuckermann e di altri risulta che il più comune di tutti è lo stafilococco piogeno aureo, a cui fa seguito lo stafilococco piogeno bianco. Entrambi sono collegati agli ascessi acuti chiusi, ai furuncoli, all'osteo-mielite acuta, ecc. Lo streptococco piogeno è pure abbastanza frequente, e ciò nei processi flemmonosi ed eresipelatosi ed è ancora il microbio principale della piemia. Lo stafilococco citreo, cereo bianco e cereo giallo, e il micrococco piogene tenue, fra i ricordati, sono quelli che si trovano più di rado degli altri.

La presenza costante dei micrococchi citati negli ascessi acuti e nelle suppurazioni in genere; il fatto che certe specie, gli streptococchi nelle suppurazioni diffuse e gli stafilococchi negli ascessi circoscritti, sono costantemente collegate con determinati tipi d'infiammazioni; il fatto che a mezzo dell'esperimento si sono prodotti ascessi superficiali coll'introduzione dei cocchi citati sotto cute; la formazione di pustole d'impetigene e di furuncoli con unzioni dei medesimi cocchi sulla pelle; nonchè la produzione di ascessi sottocutanei per iniezione dei cocchi in una deter-

minata regione, sono tutti argomenti che ci fanno ammettere come assai probabile un nesso causale fra i cocchi piogeni, di cui parliamo, e le suppurazioni acute.

Le vie d'entrata nel nostro organismo per questi cocchi sono le più svariate; la più comune però è la cute. Possono penetrare in essa per i condotti delle ghiandole sudorifere, per gli orifici delle ghiandole sebacee, per i follicoli piliferi e meglio e più facilmente per tutte quelle porzioni dove l'epidermide sia stata lesa o distrutta.

I cocchi piogeni meritano di essere studiati più esattamente di quanto non sia stato fatto fino al presente. Probabilmente le specie di stafilococchi, e forse più di streptococchi, sono in numero maggiore di quello fino al presente conosciuto.

Omettiamo qui di parlare di alcuni altri microrganismi, i quali o hanno minore importanza dei già descritti, o non sono ancora bene conosciuti nella loro azione patogenica. Valgano ad es. i bacilli della sifilide di Lustgarten, i gonococchi di Neisser e tanti altri. Prima di dar termine a questo breve trattato, diremo sommariamente intorno a due malattie di speciale importanza, che sono note a tutti, e si considerano appartenenti al gran gruppo delle infettive, sebbene fino al presente non sia stato, specialmente per una di esse, fissato il microrganismo che le determina; intendiamo alludere alla malaria e alla rabbia canina.

Malaria. — È noto, come la febbre palustre o febbre malarica sia malattia di vecchia data e

di vasta distribuzione geografica. Il sospetto che essa fosse determinata da un veleno speciale, che si trova soltanto nelle regioni malariche, e che possiede una certa pesantezza, per cui non sale oltre date altezze, è esso pure assai vecchio, e molte prove ce lo attestano.

La malaria, che costituisce una delle più grandi piaghe per la nostra Italia, è studiata attivamente da qualche decennio sotto ogni punto di vista, nè noi perciò nei brevi limiti che ci siamo imposti possiamo riassumere, sia pure brevemente, tutto quanto fino al presente è stato fatto intorno a questo vasto argomento.

Non è senza interesse storico il leggere, quanto Ippocrate, Avicenna, Palladio, Vitruvio, Lucrezio e tanti altri antichi autori scrissero nei riguardi delle cause che determinano l'infezione.

Le zone colpite dal morbo in parola sono assai numerose, ed alcune anche si presentano molto vaste. Ricordiamo per es. le pianure di Roma, che costituiscono appunto uno dei focolai malarici più estesi d'Italia. Nella stagione estiva, quando le basse pianure umide si vanno essiccando per il caldo naturale, il virus malarico incomincia a pullulare, e la malaria, dopo di aver sostato nella stagione fredda, riprende il suo corso. Non tutti i giorni della state, nè tutte le ore di un medesimo giorno, sono egualmente pericolosi per noi, ossia egualmente favorevoli alla diffusione del morbo. Nei paesi di malaria le ore crepuscolari sono le più pericolose; ciò si spiega studiando le condizioni dell'aria, ossia le correnti salienti che si vanno formando per squilibrio di tempe-

ratura. Dopo una giornata estiva, calda e secca, le correnti crepuscolari porteranno con sè i germi d'infezione assai più facilmente che dopo una giornata piovosa o dopo una notte assai umida.

Favorevole allo sviluppo della malaria è il tempo secco preceduto da pioggie estive; l'umido del terreno avrà contribuito alla riproduzione rapida dei germi, e la siccità ne favorirà la diffusione.

È noto però, che il virus malarico, questo *quid* ancora ignoto, non si lascia trasportare a grande distanza, oppure si attenua prestamente. Nelle località invase esso si tiene al suolo e a piccola altezza sopra il medesimo. Coloro che abitano sia pure poco lungi dalle località malariche, ma sopra punti elevati, colli, colline, promontorii, ecc., scampano l'infezione; conventi di monaci, villeggiature signorili, ecc., ce ne porgono esempio. Persino una elevazione di pochissimi metri sopra la pianura infetta è sufficiente per preservare dal miasma palustre; ne sieno prova le piattaforme sostenute da palafitte della campagna di Roma e delle Maremme toscane, di cui abbiamo già fatto cenno a pag. 54.

Anche nella zona torrida, dove le febbri malariche sono tanto diffuse, i soli luoghi molto elevati sono tali che restano immuni; ciò però non toglie che località alte sul livello del mare possano diventar sede di malaria. Hertz infatti scrive: « Sugli Apennini della Toscana la febbre palustre incontrasi anche ad un'altezza di metri 1100; sui Pirenei a 5000 m.; a Ceylan fino a 6500 m.; e nel Perù fino a 10 ed 11,000 m. »

L'azione benefica delle foreste in genere sulla

malaria, e quella degli stessi eucalipti sono messe in contestazione. È noto che l'esperienza più interessante rispetto all'azione antimalarica degli eucalipti è quella che da più anni si sta facendo presso Roma alla Badia delle Tre Fontane. I risultati ottenuti dall'impianto di 125.000 eucalipti, secondo alcuni, sarebbero assai favorevoli all'impianto di questa mirtacea; mentre secondo altri, alla testa dei quali sta il professore Tommasi-Crudeli, non avrebbero valore apprezzabile. Il risanamento dalla malaria più sicuro e più efficace sembra essere quello determinato dalle bonifiche e da una buona sistemazione delle acque. In regioni malariche sono dannosi i lavori profondi e gli scassi del terreno; utili invece sono quelli di copertura; è stato constatato che dove il terreno fu fognato, e poi coperto con cotica erbosa, la febbre scomparve. Roma diviene ogni dì più salubre, perchè il suolo malarico della città viene progressivamente coperto dal selciato delle nuove strade, e dalle case dei nuovi quartieri; a ciò si aggiunga che molte località dell'Agro sono tramutate in prati ben coperti da fitta cotenna erbosa.

Ora, se la malaria è veramente malattia da infezione, quali sono i microrganismi che la determinano?

Le ricerche che furono fatte in proposito, benchè condotte con molta accuratezza, non ci autorizzano ancora ad esprimerci su questo punto in modo definitivo. Klebs e Tommasi Crudeli nel 1879 esaminando l'aria, l'acqua e il suolo delle Paludi Pontine, in mezzo a tante altre forme, hanno tro-

vato e isolato in colture un bacillo di 4 a 6 μ di lunghezza, aerobio, mobile, spesso munito di spore. Le colture di questo bacillo iniettate nel tessuto sottocutaneo dei conigli davano una febbre, che nel suo decorso somigliava alla febbre intermittente. Malgrado queste ed altre osservazioni che farebbero ritenere veramente che il bacillo in discorso sia la causa della malaria, in seguito a studi ulteriori eseguiti da altri autori, il bacillo di Klebs e Tommasi Crudeli ha perduto la sua importanza, ed oggi dalla maggioranza non viene più considerato come la causa della febbre palustre.

In questo decennio il Lavéran, Richard, Marchiafava, Celli, Guarnieri, Golgi ed altri studiando direttamente il sangue delle persone affette da malaria, trovarono e descrissero una forma ameboide dentro i globuli sanguigni che appunto per la sua proprietà di cambiare continuamente di forma venne chiamata *plasmodio* (*Plasmodium malariae*). Se qui si volessero descrivere queste forme svariatissime, con o senza pigmento, con o senza speciali prolungamenti, si andrebbe troppo per le lunghe, e quindi noi ci siamo limitati alla citazione degli autori, ai quali il lettore può attingere su questo argomento le più ampie notizie. Non possiamo però passare sotto silenzio che i plasmodi in parola, i quali si ritennero in principio la vera causa della malaria, perdettero essi pure in questi ultimi tempi della loro importanza, poichè vi è chi sostiene che essi sono una degenerazione dei globuli rossi del sangue, *effetto, e non causa, dell'infezione malarica.* E quindi

quantunque questa malattia sia da ritenersi di natura parassitaria, non possiamo tuttavia fino al presente presentare alcuna conclusione positiva.

Rabbia canina. — È noto da lungo tempo che i cani, lupi, gatti, raramente gli erbivori e l'uomo stesso, vanno soggetti a questa terribile malattia.

Il modo nel quale essa si sviluppa in questo od in quell'animale, non è ancora ben noto, nè ancora allo stato attuale delle nostre cognizioni, ci è sempre dato di potere diagnostizzare il male sopra l'animale vivente, essendoci a tal uopo necessario di ricorrere a metodi speciali di esperimentazione. Generalmente si suol ritenere che un cane, il quale si dà a vita solitaria abbandonando la casa del padrone o ritirandosi in un angolo poco frequentato, che si presenta di umore cambiato, che tiene la coda bassa senza agitarla, ancorchè qualcuno gli faccia festa, che porta bave alla bocca, le quali escono e pendono all'esterno, che addenta tutto quanto incontra ingoiando paglia, stracci, pezzetti di legno, ecc., che fugge l'acqua, sia arrabbiato. Tali caratteri presi cumulativamente hanno un valore che poco si scosta dall'assoluto, ma è necessario osservare che uno o parecchi di essi possono mancare e ciò non pertanto il cane essere egualmente affetto di rabbia. Ecco la ragione, per la quale in un buon numero di casi noi, morsicati da un cane, rimaniamo incerti sulle condizioni della salute di esso.

Vi fu un tempo, in cui il Pasteur dall'esame del midollo allungato di un animale morto idro-

fobo, da certe granulazioni speciali da lui ritenute caratteristiche, asseriva di poter fare una diagnosi precisa, poichè riteneva che il midollo di animali morti di altre malattie non presenterebbe le granulazioni in questione. Ma nemmeno questo carattere è stato ritenuto di valore e lo stesso Pasteur probabilmente oggi non insiste più in questo suo enunciato.

Nulla essendovi che con sicurezza ci indichi che un cane, il quale ci ha morsicati, è idrofobo o meno, noi ci troviamo torturati dal dubbio, e dopo la fondazione degli istituti Pasteur pensiamo alla convenienza di preservarci dalla rabbia ricorrendo agli innesti.

Che cosa sia il *virus rabico*, nessuno ancora fino al presente ha potuto stabilirlo; conosciamo i suoi effetti terribili, la sua azione potente sul sistema nervoso, ma più in là non sappiamo. Vi furono autori in Italia e fuori che parlarono di un microrganismo specifico, ma gli entusiasmi di questa pretesa scoperta svanirono presto ed oggi ci troviamo ancora sempre davanti all'ignoto.

Noi ora verremo esponendo il metodo, col quale il Pasteur è giunto alla sua scoperta del *vaccino rabido*, diremo del modo di usarlo, astenendoci però da qualsiasi apprezzamento, poichè, come è noto, mentre il Pasteur ed i suoi seguaci decantano tanto l'azione benefica dell'*innesto rabido*, il Peter, il Lutaud ed altri la infirmano recisamente. Già altrove (pag. 40) abbiamo detto brevemente intorno al vaccino in questione. Si è visto che in principio il Pasteur ha osservato, che il virus rabido veniva attenuato nella sua viru-

lenza passando dal cane alle scimmie, tanto che se col midollo di queste si inoculava un coniglio e col midollo di quest'ultimo s'innestava un cane, questo rimaneva vaccinato, e per quanto si fosse agito su di lui con midolle di azione virulenta, rimaneva in ogni caso e costantemente refrattario alla malattia. In tale modo il Pasteur giunse al suo primo vaccino, ma successivamente potè per altra via semplificare il metodo e renderlo più alla portata di tutti. Ecco in questo secondo caso, come si arriva al vaccino rabido. Se si prende un pezzetto di midollo allungato di un cane morto di rabbia canina, lo si stempera in brodo sterilizzato od in acqua distillata e sterilizzata e quindi si inocula colla trapanazione del cranio qualche goccia del liquilo al disotto della dura madre di un coniglio, questo muore in 15-20 giorni.

Se dal coniglio così morto si prende pure un pezzetto di midollo allungato e lo si tratta come il primo, e quindi si infetta nello stesso modo un secondo coniglio, questo muore in un tempo più breve del primo. Se così si continua a ripetere le infezioni attraverso ad una serie di conigli, la durata dell'incubazione della rabbia sarà sempre minore, finchè si giungerà ad un periodo minimo, che è di 7 giorni. In questo caso il coniglio ormai dopo 5-6 giorni diviene triste e abbattuto, mangia poco e trascina le zampe posteriori; più tardi sta male anche sulle anteriori, la paralisi si generalizza, cade sul fianco e muore. Giunti a questi risultati, noi quindi possiamo prevedere, salvo casi eccezionali, che il coniglio muore co-

stantemente a sette giorni di distanza dal momento della trapanazione. Quest'ultima si fa nel seguente modo: si tagliano colla forbice i peli che coprono la sommità del capo dell'animale, poi con un bistori si incide la pelle per una lunghezza di qualche centimetro. Messo così il cranio allo scoperto si adatta la corona del trapano nel centro dell'incisione e si fa agire lo strumento finchè se ne asporta il dischetto osseo, ciò che permette di vedere la dura madre. A questo momento si ha pronta la siringa col liquido, si punge coll'ago la meninge citata, e senza toccare il cervello si iniettano sotto di essa alcune poche goccie. Ritirato l'ago, si rimette il dischetto osseo in posto e con due punti di sutura si riavvicinano le pieghe del tegumento. Questa operazione si fa, mentre l'animale è cloroformizzato o in altro modo anestetizzato.

Una volta raggiunta la durata minima d'incubazione, si fa presto ad ottenere il vaccino rabido. Diciamo fino da questo momento che le midolle dei conigli morti di rabbia conservate in appositi fiaschi, nell'aria secca e ad una temperatura di circa 22°, in 14 giorni perdono completamente la loro virulenza, e non hanno più alcuna azione sugli animali trapanati; quelle di 13 giorni, 12, 11, 10, 9, ecc., hanno gradi di virulenza sempre maggiori quanto più ci avviciniamo alle midolle fresche di un giorno, che sono virulentissime. Ciò saputo, si preparano dunque, sospese ad un filo di seta nell'apposito fiasco, le 14 midolle, ciò che si ottiene trapanando ogni giorno un coniglio, per averne appunto la serie completa; avremo così 14 gradi diversi di atti-

vità, una vera gamma di virulenza. Al momento di fare degli innesti si leva dal fiasco la midolla da adoperare, la si ripassa rapidamente attraverso la fiamma di una lampada ad alcool, e con una forbice sterilizzata se ne tagliano 2-3 pezzetti che, colle regole dell'antisepsi, vengono triturati e disciolti nel brodo di vitello; si forma così un liquido giallastro che è il vaccino rabido.

Arrivati a questo punto, esponiamo il metodo primo d'innesto adoperato dal Pasteur.

Senza tener conto delle 4 midolle prime, che l'esperimentatore francese ritenne troppo virulente, Pasteur a chi si presentava da lui morsicato da un animale (cane o lupo) sospetto o affetto di rabbia, inoculava nell'addome, stemperata in brodo nel modo che si è già detto, parte della midolla n. 14; al giorno dopo si valeva della 13; l'altro della 12, e così di seguito arrivando fino alla 4. A questo punto l'individuo aveva fatto 10 giorni di cura, ossia aveva ricevuto 10 inoculazioni di vaccino rabido ognor più virulento ed era messo in libertà.

Successivamente però il Pasteur avendo avuto con questo metodo parecchi insuccessi, specialmente nel trattamento dei Russi, Rumeni ed Olandesi (morsicati da lupi), pensò bene di modificarlo ed ora si vale del metodo intensivo che esponiamo sommariamente.

Ricordiamo intanto che anche qui il numero della midolla indica la sua età, ossia il numero dei giorni dacchè è soggetta alla disseccazione; così dunque la midolla 12 ha 12 giorni, la 1 ha un giorno soltanto.

I. *Trattamento per le piccole morsicature attraverso ai vestiti.*

1.° giorno	3 inoculazioni colle midolle		12, 11, 10
2.° »	3	» »	9, 8, 7
3.° »	3	» »	6, 5, 4
4.° »	1 inoculazione col midollo		3
5.° »	1	» »	2
6.° »	1	» »	1
7.° »	1	» »	4
8.° »	1	» »	3
9.° »	1	» »	2
10.° »	1	» »	1.

II. *Trattamento per le ferite delle parti scoperte, eccettuata la faccia.* Trattamento precedente, qualche giorno di riposo e nuova serie 4, 3, 2, 1.

III. *Trattamento intensivo applicato agli individui morsicati alla testa, alla faccia o alle regioni immediatamente vicine (collo, nuca), come pure alle persone arrivate in ritardo.*

Trattamento precedente; oltre ciò la serie 4, 3, 2, 1, è ripresa parecchie volte con intervalli da 2-4 giorni per 4, 5, 6 settimane.

Col primo metodo che abbiamo citato o con quest' ultimo, oppure ancora con modificazioni dell' uno e dell' altro, si praticano oggi su vasta scala le vaccinazioni contro la rabbia canina. Noi serbiamo su questo argomento la massima riserva, non vogliamo essere più che cronisti. Però anche come tali dobbiamo fare alcune considerazioni. Supponiamo che una persona morsicata da un cane, ritenuto idrofobo, si rechi in un isti-

tuto di vaccinazione per farsi curare. Si potrà domandargli, il cane che vi ha morsicato, era egli veramente idrofobo? Senza la prova dell'esperimento ciò non può essere deciso in modo assoluto. Quando col midollo del cane che ha morsicato noi avremo fatto morire in 15-18 giorni i conigli infettati per trapanazione del cranio, non dubiteremo più delle condizioni di malattia del cane; diversamente non avremo mai la certezza irrefragabile che il cane era idrofobo.

Ma un'altra domanda dobbiamo fare, alla quale, come alla prima, quelli che vanno a farsi curare non sanno rispondere. Dato che il cane sia stato veramente idrofobo, il virus rabido è stato importato a mezzo della morsicatura sotto cute in modo che possa entrare in circolazione? Se la ferita è superficiale, e se gli indumenti che coprivano la parte ferita erano grossi, non è probabile che il virus non sia penetrato? Il vestiario può aver pulito i denti feritori dal virus, o essendo questo rimasto in piccola dose nella ferita, può non essere penetrato nella circolazione. A ciò si aggiunga che in molti casi vi sono di mezzo delle cauterizzazioni generose, le quali, fatte in tempo, valgono meglio di qualunque altro trattamento.

Tutti coloro che non hanno tutta la fiducia nel trattamento Pasteur, prima di assoggettarsi alle vaccinazioni vorrebbero sapere due cose, e cioè: 1.° Il cane era egli veramente idrofobo? 2.° Ha egli veramente a mezzo del morso trasmessa la idrofobia?

Alla prima domanda, tutte le volte che si può

accalappiare il cane, come abbiamo già detto, si può rispondere con precisione. Alla seconda vi è chi rispondeva un paio di anni or sono, ma allo stato attuale delle nostre cognizioni la verità si è, che la rabbia canina non possiamo diagnostizzarla che troppo tardi, cioè quando si presenta in tutta la sua intensità, e diremo in fine di vita dell'individuo. È noto dalle osservazioni di Pasteur, di Bauer e di tanti altri che la mortalità per rabbia nell'uomo, in seguito a morsicature di cani, cade per lo più nei primi due mesi dopo l'infezione. Nei cani il periodo d'incubazione dell'infezione non giunge d'ordinario ai 60 giorni.

In pratica dunque accade che molti si fanno curare senza essere nemmeno stati morsicati da cani idrofobi; che altri, pur morsicati da cani idrofobi, non hanno in sè il virus, il quale per combinazioni fortunate diverse non ha potuto in essi penetrare. Tanto i primi, quanto i secondi, facendosi curare, si espongono ad un pericolo inutilmente. Mentre prima erano esenti da ogni infezione, in gabinetto vengono infettati, cioè ricevono il *virus rabido,* sia pure molto attenuato. Si ebbero dei casi, in cui individui innestati morirono di rabbia e non già della forma tipica canina o convulsiva, ma bensì di *rabbia paralitica*, altrimenti detta anche *rabbia dei conigli o di gabinetto.*

Per concludere intorno a questo difficile argomento, esprimiamo la convinzione che le statistiche pubblicate dai direttori dei gabinetti Pasteur hanno talvolta un valore molto limitato e vanno accolte col beneficio dell'inventario; che

chi è morsicato da un cane decisamente idrofobo, fa bene ad assoggettarsi al trattamento Pasteur, che gli esperimenti hanno dimostrato utile ed efficace; che l'innesto preventivo è atto improvvido, perchè, fortunatamente, almeno da noi, abbiamo grande probabilità di non essere feriti da cani rabbiosi, e nel peggiore partito è lasciato alla cura il tempo necessario; che, infine, nei casi dubbiosi, ossia di ferimento per parte di un cane, che non sappiamo esattamente se fosse idrofobo o meno, ciascuno deve, sulla sua responsabilità, o limitarsi ad una cauterizzazione più o meno energica, o farsi curare in un Istituto antirabico.

OPERE

PIÙ IMPORTANTI DA CONSULTARSI

Baumgarten P., *Lehrbuch der pathologischen Mycologie. Vorlesungen für Ärzte und Studirende. Hälfte 1-2.* Braunschweig, 1886 e 1888.

— *Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen.* Braunschweig, 1888.

Bordoni Uffreduzzi, *I microrganismi nelle malattie da infezione.* Torino, 1885.

Cornil et Babes, *Les Bactéries et leur rôle dans l'anatomie et l'histologie pathologique des maladies infectieuses.* Paris, 1885.

De Bary, *Vorlesungen über Bacterien-Forschung.* Wiesbaden, 1886.

Flügge C., *Die Mikroorganismen mit besonderer Berücksichtigung der Aetiologie der Infectionskrankheiten.* Leipzig, 1886.

Fraenkel C., *Grundriss der Bakterienkunde.* Berlin, 1887.

Hueppe F., *Die Methoden der Bakterien-Forschung.* Wiesbaden, 1886.

Klein E., *Micro-Organisms and disease. Introduction into the study of specific Micro-Organisms.* Third edition. London, 1886.

Loeffler Fr., *Vorlesungen über die geschichtliche Entwicklung der Lehre von den Bacterien. Für Aerzte und Studirende.* Leipzig, 1887.

Macé E., *Traité pratique de Bactériologie.* Paris, 1889.

Thoinot et Masselin, *Précis de Microbie medicale et veterinaire.* Paris, 1889.

Trouessart E. L., *Les microbes, les ferments et les moisissures.* Paris, 1886.

Van Ermengem, *Manuel technique de Microbiologie. Edition française du traité intitulé: Die Methoden der Bakterien-Forschung par le D.* F. Hueppe. Paris, 1887.

ELENCO COMPLETO

DEI

MANUALI HOEPLI

pubblicati a tutto il 1889.

I Manuali Hoepli riassumono con una mirabile chiarezza e precisione quanto più interessa di sapere intorno alla letteratura, all'arte, alla storia e alle diverse scienze.

Essi godono il maggior favore del pubblico, e sono oggi così largamente diffusi che non c'è Manuale di cui non si siano fatte parecchie copiose edizioni.

Pel rapido incremento che prende ogni giorno la nostra collezione, divisa in quattro Serie: **Artistica, Pratica, Scientifico-Letteraria** e **Speciale** stimiamo opportuno dar quì l'elenco alfabetico completo dei volumi già pubblicati, e di quelli in corso di pubblicazione. Ogni volumetto è elegantemente legato in tela.

SERIE ARTISTICA

a Lire **2,** —

che abbraccia l'Architettura, la Pittura, la Scoltura e le Arti applicate.

SERIE PRATICA

a Lire **2,** —

contenente una raccolta di volumi che trattano di industria, di nozioni utili nella vita pratica;

SERIE SCIENTIFICA e LETTERARIA

a Lire **1,50**

che abbraccia le scienze propriamente dette, ed alcune più importanti loro applicazioni;

SERIE SPECIALE

Questa serie comprende alcune applicazioni della Scienza all'Industria, ed argomenti diversi. In essa figurano quei volumi che per mole o per abbondanza d'incisioni non si possono classificare nelle serie precedenti a prezzi determinati.

L'Elenco generale alfabetico si trova nelle seguenti pagine.

Adulterazione e falsificazione degli alimenti, di L. Gabba, pag. VIII-211 . . . . L. 2 —
Agronomia, di Carega di Muricce, 2.ª edizione, pag. 199 » 1 50
Algebra elementare, di S. Pincherle, 2.ª ediz., pag. VI-207 » 1 50
Alimentazione, di G. Strafforello, pag. VIII-122 . . . » 2 —
Alpi (le), di J. Ball, trad. di I. Cremona, pag. VI-120 . » 1 50
Analisi del vino nel riguardo sanitario e legale, di J. Barth, trad. Comboni, di pag. 141 con 7 incisioni . . . . . » 2 —
Anatomia pittorica, di A. Lombardini, pag. VI-118 con 39 inc. » 2 —
Animali da cortile, di P. Bonizzi, pag. XII-238 con 39 inc. » 2 —
Antichità private dei Romani, di Kopp, trad. Moreschi, 2.ª edizione, pag. XII-130 con 8 incisioni . . . . . . » 1 50
Antropologia, di G. Canestrini, 2.ª edizione ampliata, pagine VIII-232, con 23 incisioni . . . . » 1 50
Apicoltura razionale, di G. Canestrini, pag. VIII-175, con 32 incisioni . . . . » 2 —
Arabo volgare, di De Sterlich e Dib Khaddag. Raccolta di 1200 vocaboli e 600 frasi più usuali, pag. 143, con 8 tavole » 2 50
Araldica (Grammatica), di F. Tribolati, 2.ª ediz., pag. VIII-120, con 98 incisioni e un'appendice sulle *Livree* . . . . » 2 50
Archeologia dell'arte di I. Gentile:
I. Arte Greca, pag. XII-226 . . . . » 1 50
II. Arte Romana, pag. IV-227. . . . . » 1 50
Architettura Italiana, di Alfredo Melani, 2 vol., di pag. XVIII-213 e XII-266, con 46 tav. e 113 fig., 2.ª edizione . . » 6 —
I. Architettura Pelasgica, Etrusca, Italo-Greca e Romana.
II. Architettura Medievale, del Rinascimento, del Cinquecento, Barocca, del Settecento, e Contemporanea.
Arte mineraria, di V. Zoppetti, di pag. IV-182, con 112 fig. in 14 tavole . . . . » 2 —
Assicurazione sulla Vita, di C. Pagani, pag. VI-151 . . » 1 50
Astronomia, di Lockyer, trad. di G. Schiaparelli e Sergent, 3.ª edizione, pag. VI-155, con 44 incisioni . . . . . . » 1 50
Atlante geografico universale, 25 tavole, di R. Kiepert, con notizie geografiche e statistiche di G. Garollo, 7.ª ediz. completamente rifatta, con 96 pag. di testo . . . . . » 2 —
Atlante geografico-storico dell'Italia di G. Garollo, 24 carte con testo . . . . » 2 —
Bachi da seta, di T. Nenci, pag. 276, con 41 inc. e 2 tav. » 2 —
Batteriologia di Canestrini, con 30 illustrazioni . . . . » 1 50
Bibliografia, di G. Ottino, pag. VI-158, con 11 incisioni » 2 —

Bibliotecario (Manuale del) di Petzholdt trad. libera di G. Biagi, in lavoro.
Botanica, di Hooker, trad. di N. Pedicino, 3.ª edizione, pagine XIV-138, con 68 incisioni . . . . L. 1 50
Caseificio, di L. Manetti, pag. 208, con 18 incisioni . . » 2 —
Celerimensura, Manuale e tavole di G. Orlandi di pag. 1200, con incisioni . . . . » 18 —
Chimica, di Roscoe, trad. di A. Pavesi, pag. VIII-134, con 36 inc., 3.ª edizione . . . . » 1 50
Chimico e dell'Industriale (Manuale del) di L. Gabba . » 5 —
Climatologia, di L. De Marchi, in lavoro.
Colombi domestici e colombicultura, di P. Bonizzi, pag. V-209, con. 29 incisioni . . . . » 2 —
Colori e vernici, di G. Gorini, 2.ª edizione, pag. IV-184 » 2 —
Compensazione degli errori con speciale applicazione ai rilievi geodetici, di F. Crotti, pag. IV-160. . . . . » 2 —
Computisteria, di V. Gitti, 2.ª edizione, vol. I, Computisteria Commerciale, pag. VI-172 . . . . » 1 50
Concia delle pelli, di G. Gorini, 2.ª edizione, pag. 150 . » 2 —
Conserve alimentari, di G. Gorini, 2.ª edizione, pag. 161 » 2 —
Cubatura. — Prontuario per la cubatura dei legnami rotondi e squadrati secondo il sistema metrico decimale, di G. Belluomini, di pag. 169 . . . . » 2 50
Curve. — Manuale pel tracciamento delle curve delle Ferrovie e Strade carrettiere, calcolato nel modo più accurato per tutti gli angoli e i raggi, di E. Kröhnke, tradotto da L. Loria, 2.ª edizione, pag. 164 e 1 tav. . . . . .» 2 50
Dante, di G. A. Scartazzini, 2 vol. di pag. VIII-139 e IV-147:
I. Vita di Dante . . . . » 1 50
II. Opere di Dante. . . . . » 1 50
Decorazione e Industrie artistiche di A. Melani, 2 vol. con 120 incisioni . . . . » 6 —
Dinamica elementare, di C. Cattaneo, p. VIII-145, con 25 fig. » 1 50
Diritti e doveri del cittadino, di D. Maffioli, colla spiegazione dello Statuto secondo le Istruzioni ed i Programmi governativi per le Scuole Tecniche, Magistrali e Popolari del Regno. 5.ª ed., di pag. XVI-172 . . . . » 1 50
Diritto costituzionale, di F. P. Contuzzi, pag. XII-320 . » 1 50
Diritto internazionale privato di F. P. Contuzzi, vol. doppio » 3 —
Diritto internazionale pubblico, di F. P. Contuzzi, pag. XI-320, vol. doppio . . . . » 3 —
Diritto penale, di A. Stoppato, pag. VIII-192 . . . . . » 1 50
Diritto Romano, di C. Ferrini, pag. IV-129 . . . . . . » 1 50
Disegno. — I principi del Disegno e gli stili dell'Ornamento, di C. Boito, 3.ª ediz., di pagine IV-206, con 61 silog. . » 2 —

Disegno topografico, di G. Bertelli, pag. VI-135, con 12 tav. e 10 incisioni. . . . . L. 2 —
Dizionario Geografico Universale di G. Garollo, 3.ª edizione, pag. VI-632 . . . . » 6 50
Dizionario italiano - volapük di C. Mattei, in lavoro.
„ **volapük - italiano** „ „
Economia politica, di Jevons, trad. Cossa, 2.ª edizione, pag. XIII-173 . . . . » 1 50
Elettricista (Manuale dell') di Colombo e Ferrini, in lavoro.
Elettricità, di Jenkin, trad. Ferrini, pag. 179, con 32 inc. » 1 50
Energia fisica, di R. Ferrini, pag. VI-108, con 15 inc. . » 1 50
Enologia, di O. Ottavi, pag. VI-123, con 12 incisioni . » 2 —
Errori e pregiudizi volgari, di G. Strafforello, pag. IV-170 » 1 50
Esercizi geografici e quesiti di L. Hugues **sull'Atlante di Kiepert,** 2.ª ed., pag. 75 . . . . » 1 —
Etnografia, di B. Malfatti, 2.ª edizione, di pag. IV-200 » 1 50
Falegname ed ebanista. — Manuale sopra la natura dei legnami indigeni ed esotici, la maniera di conservarli, prepararli, colorirli e verniciarli, corredato del modo di farne la cubatura e delle nozioni di geometria pratica. di G. Belluomini, pag. X-138, con 42 inc. . . . . » 2 —
Farmacista (Manuale del) di P. E. Alessandri, pag. XII-628 con 138 tav. e 80 fig. . . . . » 6 50
Filatura. — Manuale di filatura, tessitura e apprestamento ossia lavorazione meccanica delle fibre tessili, di E. Grothe, con 105 incisioni. Traduzione sulla 2.ª tedesca, arricchita di numerose aggiunte, nonchè di un'Appendice contenente un Elenco degli Attestati di privativa riguardanti le industrie tessili; una Raccolta di Tabelle, Dati numerici, Cenno descrittivo sui filatoi ad anello; pag. VII-413. » 5 —
Fisica, di Balfour Stewart, traduzione di G. Cantoni, 3.ª ed., pag. X-185, con 48 incisioni . . . . » 1 50
Fisiologia, di Foster, trad. di G. Albini, 3.ª ediz., pag. XII-155, con 18 incisioni. . . . . » 1 50
Fonditore in tutti i metalli, di G. Belluomini. pag. 146 con 41 incisioni . . . . » 2 —
Fonologia italiana, di L. Stoppato, pag. VIII-101 . . . » 1 50
Fotografia pei dilettanti (Come il sole dipinge), di G. Muffone, pag. VIII-160, con 7 incisioni . . . . » 2 —
Frumento e Mais di G. Cantoni, pagine VI-168 e 13 incis. » 2 —
Fulmini e parafulmini, di E. Canestrini, p. VIII-166, con 6 inc. » 2 —
Galvanoplastica, di R. Ferrini, 2 vol., pag. 190-150 con 45 incisioni . . . . » 4 —

Geografia, di Grove, trad. di E. Galletti, 2.ª ediz., pag. X-160, con 26 incisioni . . . . L. 1 50
Geografia classica, di Tozer, trad. di I. Gentile, 3.ª edizione, pag. 160. » 1 50
Geografia fisica, di Geikie, trad. di A. Stoppani, 2.ª ediz., pag. IV-132, con 20 incisioni . . . . » 1 50
Geologia, di Geikie, traduzione di A. Stoppani, 2.ª edizione, p. VI-153, con 47 incisioni. . . . . » 1 50
Geometria pura elementare, di S. Pincherle, 2.ª edizione, pag. VI-140, con 112 incisioni . . . . » 1 50
Geometria metrica e trigonometria, di S. Pincherle, 2.ª edizione, pag. V-151, con 46 incisioni . . . .» 1 50
Geometria projettiva, di F. Aschieri, pag. VI-190, con 66 inc. » 1 50
Geometria descrittiva, di F. Aschieri, p. IV-210, con 85 inc. » 1 50
Geometria analitica del piano, di F. Aschieri, pag. VI-194, con 12 incisioni . . . . » 1 50
Geometria analitica dello spazio, di F. Aschieri, pag. VI-196, con 11 inc. . . . . » 1 50
Geometria pratica, di G Erede, 2.ª ed., p. X-183, con 124 inc. » 2 —
Gioielleria, Oreficeria di E. Boselli, pag. 335 con 125 inc. » 4 —
Igiene scolastica di Repossi . . . . » 2 —
Igroscopii, igrometri, umidità atmosferica di P. Cantoni, pagine XII-146 con 24 incisioni e 7 specchi grafici . . . » 1 50
Imbalsamatore, (Manuale dell') di R. Gestro, pag. VI-118, con 30 inc. . . . . » 2 —
Industria della seta di L. Gabba, 2.ª edizione, pag. IV-207. » 2 —
Infezione, disinfezione e disinfettanti, di P. E. Alessandri, pagine VIII-190, con 7 inc.. . . . .» 2 —
Ingegnere civile. — Manuale dell'ingegnere civile e industriale, di G. Colombo, 10.ª ed., 1888, di pag. XIV-347, con 191 figure . . . . » 5 50
Il medesimo tradotto in francese da P. Marcillac . . » 5 50
Ingegnere navale. — Prontuario per l'ingegnere navale, di A. Cignoni, con 36 figure, di pag. XXXII-292. legato in tela » 4 50
legato in pelle . . . . » 5 50
Insetti nocivi, di F. Franceschini, in lavoro.
Insetti utili, di F. Franceschini, pag. 160, con 43 incisioni ed una tavola . . . . » 2 —
Interesse e sconto, di E. Gagliardi, pag. VI-203 . . . » 2 —
Latte, Burro, Cacio di Sartori, pag. X-162 . . . . . . » 2 —
Letteratura americana, di G. Strafforello, pag. X-147 . » 1 50
Letteratura ebraica, di A. Revel, 2 vol., di pag. 363 . » 3 —
Letteratura francese, di F. Marcillac, trad. di A. Paganini, 2.ª edizione, pag. VII-184 . . . . » 1 50
Letteratura greca, di V. Inama, 6.ª ediz., pag. VII-232 e un Prospetto . . . . » 1 50
Letteratura indiana, di A. De Gubernatis, pag. VIII-159 » 1 50
Letteratura inglese, di E. Solazzi, 2.ª ediz., pag. VIII-194 » 1 50

Letteratura italiana, di C. Fenini, 3.ª edizione, pag. VI-203 L. 1 50
Letteratura persiana, di I. Pizzi, pag. X-208. . . . . » 1 50
Letteratura romana, di F. Ramorino, 2.ª ediz., pag. IV-290 » 1 50
Letterature slave di D. Ciàmpoli, 2 volumi:
I. Bulgari, Serbo-Croati, Yugo-Russi, pag. II-142 . . » 1 50
II. Russi, Polacchi, Boemi, in lavoro.
Letteratura spagnuola e portoghese, di L. Cappelletti, pag. VI-204 . . . . » 1 50
Letteratura tedesca, di Lange, trad. di A. Paganini, 2.ª ediz., pag. XII-167 . . . . » 1 50
Lingue dell'Africa, di R. Cust, tr. di A. De Gubernatis, p. 109 » 1 50
Logaritmi, con 5 decimali di O. Müller, 3.ª edizione, pagine XX-142 . . . . » 1 50
Logica, di Jevons, trad. di Di Giorgio, 3.ª ediz., pag. IV-156, con 15 incisioni . . . . » 1 50
Logismografia, di C. Chiesa, 3.ª edizione, pag. XIV-172 . » 1 50
Luce e Colori, di G. Bellotti, p. X-156 con 24 inc. e una tav. » 1 50
Macchine Agricole di Cencelli-Perti . . . . » 2 —
Macchinista e fuochista, di G. Gautero, 3.ª ediz., pag. XIV-142, con 23 incisioni . . . . » 2 —
Magnetismo ed elettricità, di G. Poloni, pag. XII-202 con 102 incisioni . . . . » 2 50
Malattie Crittogamiche delle Piante erbacee coltivate, di Wolf, trad. di P. Baccarini . . . . » 2 —
Mandato commerciale, di E. Vidari, pag. VI-160 . . . » 1 50
Mare (il), di V. Bellìo, pag. IV-140, con 6 tav. col. . . » 1 50
Meccanica, di Ball, traduzione di J. Benetti, 2.ª edizione, pag. XII-196, con 89 incisioni . . . . » 1 50
Metalli preziosi (oro, argento, platino, estrazione, fusione, assaggi, usi), di G. Gorini, 2.ª ediz., pag. 196 con 9 inc. » 2 —
Meteorologia generale, di L. De Marchi, di pag. 153, con 8 tavole colorate . . . . » 1 50
Metrica dei Greci e dei Romani, di L. Müller, trad. di V. Lami, pag. XVIII-124. . . . . » 1 50
Mineralogia generale, di L. Bombicci, 2.ª ediz., pag. XIV-174 con 183 inc. e 3 tavole . . . . » 1 50
Mineralogia descrittiva, di L. Bombicci, pag. IV-300 con 119 incisioni (vol. doppio) . . . . » 3 —
Mitologia comparata, di A. De Gubernatis, 2.ª edizione, pag. VIII-150 . . . . » 1 50
Naturalista viaggiatore, di A. Issel e R. Gestro (Zoologia), pagine VIII-144, con 38 inc. . . . . » 2 —
Notaro (Manuale del) di A. Garetti, pagine 196 . . . . » 2 50
Olii vegetali, animali e minerali, di G. Gorini. Nuova ed., p. 162 con 7 incisioni . . . . » 2 —

Omero, di W. Gladstone, trad. di R. Palumbo e C. Fiorilli, pag. XII-196 . . . . L. 1 50

Operaio (Memoriale dell'). Raccolta di cognizioni utili ed indispensabili agli operai tornitori, fabbri, calderai, fonditori di metalli, bronzisti, aggiustatori e meccanici, di G. Belluomini, 2.ª edizione, pag. XIV-188 . . . . . . » 2 —

Ordinamento degli Stati liberi di Racioppi in lavoro.

Oreficeria e Gioielleria di E. Boselli, pag. 335, con 125 inc. » 4 —

Paleoetnologia, di I. Regazzoni, pag. 250 con 10 incisioni » 1 50

Paleografia di E. M. Thompson, trad. di G. Fumagalli, in lavoro.

Panificazione razionale, di Pompilio, pag. IV-126 . . . » 2 —

Peso dei metalli, ferri quadrati, rettangolari, cilindrici, a squadra, a U, a Y, a Z, a T e a doppio T e delle lamiere e tubi di tutti i metalli, di G. Belluomini, pag. XXIV-247 » 3 50

Piante industriali, di G. Gorini. Nuova ediz., di pag. 143 » 2 —

Piccole industrie, di A. Errera, pag. XVI-185 . . . . » 2 —

Pietre preziose. Classificazione, valore, arte del giojelliere, di G. Gorini, 2.ª edizione, pag. 137, con 12 incisioni . » 2 —

Pittura. — Pittura Italiana antica e moderna, di Alfredo Melani, 2 vol., di pag. XX-164 e XXVI-202 illustrati con 102 tav. e 11 fig. . . . . » 6 —

Parte I: Pittura italica primitiva, etrusca, italo greca, romana, di Ercolano e di Pompei, pittura cristiana delle Catacombe, di Cimabue, di Giunta Pisano, di Guido da Siena, ecc.

Parte II: Pittura del Rinascimento, dei grandi Precursori del Rinascimento classico, del Rinascimento classico e delle Scuole che ne derivarono, pittura degenerata e moderna.

Prato (il) di G. Cantoni, pag. 145, con 13 inc. . . . . . » 2 —

Prealpi Bergamasche (Guida-itinerario alle), con prefazione di Stoppani, pag. XX-124, con carta topografica e panorama delle Alpi Orobiche . . . . » 3 —

Prontuario di geografia e statistica, di G. Garollo, p. 62 » 1 —

Protistologia, di L. Maggi, pag. 183, con 65 inc. . . . . » 1 50

Psicologia, di C. Cantoni, pag. 157 . . . . » 1 50

Ragioneria, di V. Gitti. 2.ª edizione riveduta, pag. 130. » 1 50

Religioni e lingue dell'India inglese, di R. Cust, trad. di A. De Gubernatis, pag. IV-124 . . . . » 1 50

Riscaldamento e Ventilazione, di R. Ferrini, 2 vol., di pagine VIII-329, con 94 incisioni e 3 tavole colorate . . » 4 —

Scoltura. — Scoltura italiana antica e moderna, di Alfredo Melani, di pag. XVIII-196, con 56 tavole e 26 figure interc. » 4 —

Seta (Industria della). Riassunto dei dati scientifici e tecnici relativi alla produzione della seta, di L. Gabba, 2.ª edizione, pag. IV-207 . . . . L. 2 —
Sismologia, di L. Gatta, di pag. VIII-175, con 16 inc. e 1 carta » 1 50
Spettroscopio e sue applicazioni, di R. A. Proctor, trad. di F. Porro, pag. VI-178 con 71 inc. e 1 carta di spettri » 1 50
Stenografia di G. Giorgietti e M. Tessaroli (sistema Gabelsberger-Noe) di pagine 200 . . . . » 2 —
Storia e Cronologia Medioevale e Moderna in CC tavole sinottiche, di V. Casagrandi, di pag. XVIII-203 . . . . » 1 50
Storia Greca, di I. Gentile, in lavoro.
Storia italiana, di C. Cantù, pag. 160 . . . . » 1 50
Storia Orientale, di I. Gentile, in lavoro.
Tabacco, di G. Cantoni, pag. IV-175, con 6 incisioni . » 2 —
Tecnologia e terminologia monetaria, di G. Sacchetti, pagine XIV-192. . . . . » 2 —
Telefono, di D. V. Piccoli, pag. 119, con 38 incisioni. . » 2 —
Telegrafia, di R. Ferrini, con incisioni . . . . » 2 —
Termodinamica, di C. Cattaneo, pag. X-195, con 4 fig. . » 1 50
Tintore, di R. Lepetit, 3.ª edizione riveduta e aumentata, contenente la descrizione e l'uso di tutte le materie coloranti artificiali, pag. X-286 con 14 incisioni . . . . . » 4 —
Viticoltura razionale. Precetti ad uso del Viticoltore italiano, di O. Ottavi, 2.ª edizione, pag. VIII-173 e 22 incisioni » 2 —
Volapük (Corso teorico-pratico di) di C. Mattei, 1 vol. di circa 250 pagine, in lavoro.
Volapük (Dizionario italiano-volapük) 1 vol. in lavoro.
Volapük (Dizionario volapük-italiano) 1 vol. „
Vulcanismo, di L. Gatta, pag. VIII-267, con 28 inc. e 1 c.ª » 1 50
Zoologia, di Giglioli-Cavanna, 3 volumi:
I. Invertebrati, pag. VIII-200 con 45 figure . . . » 1 50
II. Vertebrati. Parte 1.ª, Generalità, Ittiopsidi; di pagine XVI-155 e 33 incisioni. . . . . » 1 50
III. Vertebrati. Parte 2.ª, Sauropsidi, Teriopsidi; pagine XVI-200, con 22 incisioni . . . . » 1 50

Abbiamo compreso nell'elenco i volumi che sono di prossima pubblicazione, ai quali poi seguiranno altri da abbracciare un vasto campo; sopratutto ci proponiamo di non ammettere in questa collezione se non opere veramente scelte, per mantenere la fama ed il credito che il pubblico si compiacque accordare ai Manuali Hoepli.

TIPOGRAFIA BERNARDONI DI C. REBESCHINI E C.

MANUALI HOEPLI.

I Manuali Hoepli riassumono con una mirabile chiarezza e precisione quanto più interessa di sapere intorno alla letteratura, all'arte, alla storia e alle diverse scienze.

Essi godono il maggior favore del pubblico, e sono oggi così largamente diffusi che non c'è Manuale di cui non si siano fatte diverse copiose edizioni.

Il rapido aumento di questa collezione ci dà perciò il dovere di riportarne l'elenco completo a tutt' oggi, diviso in quattro serie: **Manuali Artistici, Pratici, Scientifici e Letterari, e Speciali.** Come tutti sanno, ogni volumetto è elegantemente legato in tela.

SERIE ARTISTICA

a Lire 2,—

che abbraccia l'Architettura, la Pittura, la Scoltura e le Arti applicate.

SERIE PRATICA

a Lire 2,—

contenente una raccolta di volumi che trattano di industrie e di nozioni utili nella vita pratica;

SERIE SCIENTIFICA e LETTERARIA

a Lire 1,50

che abbraccia le scienze propriamente dette, ed alcune più importanti loro applicazioni.

SERIE SPECIALE

Questa serie comprende alcune applicazioni della Scienza all'Industria, ed argomenti diversi. In essa figurano quei volumi che per mole o per abbondanza d'incisioni non si possono classificare nelle serie precedenti a prezzi determinati.

☞ L'Elenco generale alfabetico si trova nelle ultime pagine di ciascun volume. ☜

Acca